



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 102 36 029 A1 2004.02.19

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: 102 36 029.4

(22) Anmeldetag: 02.08.2002

(43) Offenlegungstag: 19.02.2004

(51) Int Cl.⁷: G01N 21/76

G01N 33/483, G01N 35/00

(71) Anmelder:

CyBio Systems GmbH, 88662 Überlingen, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte Oehmke und Kollegen, 07743 Jena

(72) Erfinder:

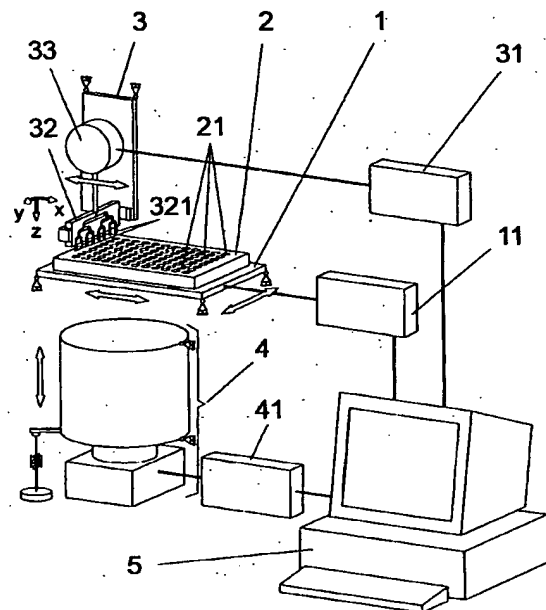
Wulf, Jürgen, Dr., 88662 Überlingen, DE; Fina,
Andreas, 88662 Überlingen, DE; Jurtz, Michael,
88662 Überlingen, DE; Pongratz, Werner, 88273
Fronreute, DE; Heil, Michael, 88690
Uldingen-Mühlhofen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: Einrichtung zum Dispensieren und Beobachten der Lumineszenz von Einzelproben in Multiprobenanordnungen

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Einrichtung zum Dispensieren und Beobachten der Lumineszenz von Einzelproben in Multiprobenanordnungen, insbesondere für die Untersuchung von biologischen, chemischen oder zellbiologischen Assays mit hohem Probendurchsatz (HTS und UHTS).

Die Aufgabe, eine neue Möglichkeit zum Dispensieren von Multiprobenanordnungen (Mikroplatten) und Beobachten der Lumineszenz der Einzelproben insbesondere für HTS-Untersuchung von biologischen Assays zu finden, die eine sofortige Verlaufsbeobachtung der Lumineszenz bei gleichzeitig fortgesetzter Dispensierung gestattet, ohne dass sie auf einen bestimmten Mikroplatten-Typ beschränkt ist, wird erfindungsgemäß gelöst, indem die Dispensiereinheit wenigstens einen linearen, Dispensierkamm aufweist, wobei der Dispensierkamm eine gerade Anzahl von Dispensierdüsen enthält, die einen ganzzahligen Teiler der Zahl der Kavitäten in einer Dimension der Mikroplatte darstellt, die Dispensierkämme orthogonal zu deren Längsausdehnung verschiebbar angeordnet sind, jeder Dispensierkamm an eine steuerbare Pumpe zur Dosierung der zu dispensierenden Flüssigkeitsmenge ohne Eintauchen in die Kavitäten der Mikroplatte angeschlossen ist und die CCD-Kamera mittels eines lichtstarken optischen Systems auf einen großflächigen, rechteckigen Bereich der Unterseite der Mikroplatte gegenüber der Dispensiereinheit ausgerichtet ist, wobei die Fläche an die Dimension des Dispensierkammes und den vom Dispensierkamm überstrichenen Bereich der ...



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Einrichtung zum Dispensieren und Beobachten der Lumineszenz von Einzelproben in Multiprobenanordnungen, insbesondere für die Untersuchung von biologischen, chemischen oder zellbiologischen Assays mit hohem Probendurchsatz (HTS und UHTS). Sie ist insbesondere zum Beobachtung von kurz andauernden Lumineszenzerscheinungen (Flash-Lumineszenz) unmittelbar nach Dispensierung mehrerer Kavitäten (Wells) von Mikrotitrationsplatten (Mikroplatten) der vorgenannten Art geeignet.

[0002] Insbesondere in der Biochemie und Pharmazie kommt es darauf an, in kurzer Zeit möglichst viele verschiedene Substanzen in Mikrotitrationsplatten (Mikroplatten) durch Zugabe von Reagenzien oder Zellen auszutesten. Dies geschieht meist in Form eines Assays, bei dem genau festgelegt ist, in welcher Reihenfolge zu welchem Zeitpunkt die Mikroplatte mit ihren Proben an welchem Ort sein muss. Meist werden Reaktionen von lebenden Zellen auf pharmakologisch interessante Substanzen geprüft. Die Zellen müssen dazu in einem Nährmedium bei spezifischer Temperatur gehalten und mit Substanzen versetzt werden, wiederum eine definierte Zeit im Wärmeschrank gehalten – inkubiert – werden usw. Ebenso ist aber auch der umgekehrte Fall, nämlich die Zugabe von Substanzen in die mit Reagenzien oder Zellen belegten Wells der Mikroplatte, möglich.

[0003] Am Ende wird in vielen Fällen die oben geschilderte Vorbehandlung mit einer optischen Lumineszenzmessung abgeschlossen. Dazu werden den Zellen vor oder in dem Zeitpunkt der Lichtmessung noch eine oder mehrere Reagenzien zugegeben. Es soll in möglichst vielen (oder allen) Wells der Mikroplatte Flüssigkeit zugegeben und außerdem gleichzeitig beginnend mit der Flüssigkeitszugabe die Lichtemission gemessen werden. Dabei gibt es mehrere konkurrierende Forderungen, wenn ein hoher Plattendurchsatz beim automatischen HTS (High Throughput Screening) oder UHTS (Ultra High Throughput Screening) erzielt werden soll.

[0004] Da die generierten Lichtsignale teilweise nur über wenige Sekunden zu erwarten sind, ist – pro Well – die Intensitätsmessung mit einer Zeitauflösung im Sekundenbereich erforderlich. Die Gesamtmesszeit über eine ganze Mikroplatte soll jedoch kurz sein.

[0005] Wegen der hohen Kosten für die komplexen Verbindungen der Dispensierreagenzien darf der Probeneinsatz nur einige µl einer verdünnten Lösung sein. D.h. man benötigt ein hochempfindliches Detektionssystem (möglichst Photonen-zähler, z.B. SEV bzw. PMT); herkömmliche Videokamerasysteme sind dafür nicht empfindlich genug.

[0006] Herkömmlich erfolgt die reproduzierbare Zugabe definierter Flüssigkeitsmengen simultan über Pipettierer, die zur Vermeidung einer Probenverschleppung aufgrund des Eintauchens in die Probenflüssigkeit der Wells nach jedem Pipettierschritt in ei-

ner Spülstation zwischengespült werden müssen. Demzufolge werden für einen hohen Mikroplatten-Durchsatz möglichst alle Wells einer Mikroplatte gleichzeitig pipettiert. Diese Forderung beschränkt die Anwendbarkeit der Einrichtung auf verschiedene Mikroplatten-Typen oder erfordert erhebliche Mehraufwände zum Wechseln der Pipettierköpfe.

Stand der Technik

[0007] Eine neuerdings für die Dispensierung eingeführte kontaktlose Methode (DE 199 11 456 A1) erspart zwar eine Zwischenspülung des Dispensierkopfes, ist jedoch aufgrund einer definierten Pumpensteuerung nur auf eine beschränkte Anzahl von Dispensierdüsen anwendbar, wodurch Verschiebeschritte des Dispensierkopfes gegenüber der Mikroplatte erforderlich sind, die den Dispensiervorgang für die gesamte Mikroplatte nicht in einem Schritt erlauben und somit den Vorgang der Dispensierung verlängern.

[0008] Im Stand der Technik sind zahlreiche Pipettier- oder Dispensiergeräte bekannt geworden, die über eine optische Beobachtungseinrichtung zur Messung von Lumineszenzerscheinungen infolge der Zugabe eines Reagens verfügen, um bestimmte Inhaltsstoffe in den Kavitäten (Wells) der Mikroplatte nachweisen zu können.

[0009] So ist z.B. in dem Patent US 4 772 453 ein Gerät beschrieben, das die Messung der Lumineszenz in Mikroplatten gestattet, indem eine Flüssigkeit zu einer festen Zeit vor der Messung zugegeben wird und die Messung sequenziell Well für Well mit Hilfe eines Photo-Vervielfachers (SEV bzw. PMT) erfolgt. Dabei wird die Mikroplatte mittels eines x-y-Tisches bewegt. Parallel zur ablaufenden Messung wird Flüssigkeit in das nächste zu messende Well injiziert.

[0010] Nachteil ist hierbei der große Zeitaufwand der Messung sowie die Tatsache, dass keine Gleichzeitigkeit zwischen Flüssigkeitszugabe und Messung erreicht wird, d.h. eine sofortige kurze Lichtreaktion, eine sogenannte Flash-Lumineszenz, kann nicht verfolgt werden.

[0011] Ähnlich ist die Lösung im Patent US 4 366 118 angelegt, in dem ebenfalls ein sequentielles Auslesen per PMT beschrieben wird. Die Zugabe von Substanzen zur Lichtreaktion erfolgt hier direkt über der Messposition, d.h. simultan zur Messung. Damit besteht, wie bei US 4 772 453, der Nachteil des großen Zeitaufwandes für die Messung Well für Well in gleicher Weise, wenn Messzeiten im Sekundenbereich erforderlich sind.

[0012] Die europäische Patentanmeldung EP 0 025 350 beschreibt eine Lumineszenzvorrichtung, die ein simultanes Dispensieren und Messen zulässt. Der Dispensierer besteht aus einer Anzahl von Injektionsröhrchen, die in einer Art Gabelaufhängung mit einem unter jedem Röhrchen befindlichen Detektor mitbewegt werden.

[0013] Nachteilig ist dabei, dass die Detektoren un-

terhalb der Töpfe verbleiben müssen, um den zeitlichen Verlauf einer kurzen Lumineszenzerscheinung verfolgen zu können, nachdem die Wells dispensiert wurden. Erst wenn die Messung beendet ist, kann zur nächsten Spalte der Mikroplatte weitergefahren werden. D.h., die Vermessung einer Mikroplatte dauert sehr lange, weil jeweils nur eine Spalte der Mikroplatte dispensiert und vermessen werden kann, wenn die Vermessung der vorherigen Spalte abgeschlossen ist.

[0014] In der WO 01/07896 wird eine Apparatur offenbart, die die Lumineszenz von oben aus einer Mikroplatte mittels einer gekühlten CCD-Kamera ausliest. Infolgedessen erfolgt eine Flüssigkeitszugabe außerhalb der Messkammer vor der Messung. Außerdem verwendet die eingesetzte Optik eine spezielle Fresnellinse zur Abbildung. Nachteilig erscheint hier die gekühlte CCD-Kamera, die lange Integrationszeiten benötigt, um entsprechende Intensitäten der Lumineszenz nachzuweisen. Einzelne Photonen sind nicht nachweisbar. Da die Kamera außerdem nicht gleichzeitig mit der Flüssigkeitszugabe misst, können Flash-Lumineszenzvorgänge innerhalb weniger Sekunden sowie eine etwaige schnelle Kinetik des Lumineszenzverlaufs nicht aufgezeichnet werden.

[0015] Die EP 0 753 734 beinhaltet eine Einrichtung zur Messung von Lumineszenz unter Zugabe von Flüssigkeiten. Dabei werden nacheinander zwei verschiedene Reagenzien mit unterschiedlichen feststehenden Dispensiereinheiten zugegeben, wobei die Mikroplatte darunter hinwegbewegt wird. In der Position der zweiten Dispensiereinheit ist unterhalb der Mikroplatte eine Optik zur Übertragung des Lumineszenzlichts auf eine Videokamera angeordnet. Nachteilig ist hierbei, dass die erste feststehende Dispensiereinheit nur für Reagenszugaben ohne Lumineszenz oder mit nicht zeitkritischer Lumineszenz verwendet werden kann, denn die Flüssigkeitszugabe erfolgt außerhalb des Messbereichs der Kamera. Damit ist die Einrichtung nur für bestimmte Reaktionsabläufe geeignet. Außerdem kann (wie bei der EP 0 025 350) nicht gleichzeitig gemessen und weiter dispensiert werden. Das ist wahrscheinlich aber deshalb nicht vorgesehen, da das Dispensiergerät wegen des Eintauchens in die Flüssigkeiten der Wells eine integrierte Waschstation zur Vermeidung von Probenverschleppungen aufweist, in der die Dispensierspitzen während der andauernden Messung gespült werden. Dadurch wird jedoch der Probendurchsatz eines HTS-Regimes ebenfalls beschränkt.

Aufgabenstellung

[0016] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine neue Möglichkeit zum Dispensieren von Multiprobenanordnungen (Mikroplatten) und Beobachten der Lumineszenz der Einzelproben, insbesondere für die Untersuchung von biologischen, chemischen oder zellbiologischen Assays mit hohem Proben-

durchsatz (HTS), zu finden, die eine sofortige Verlaufsbeobachtung der Lumineszenz bei gleichzeitig fortgesetzter Dispensierung gestattet, ohne dass sie auf einen bestimmten Mikroplatten-Typ beschränkt ist.

[0017] Erfindungsgemäß wird die Aufgabe bei einer Einrichtung zum Dispensieren und Beobachten der Lumineszenz von Einzelproben in Multiprobenanordnungen, insbesondere für die Untersuchung von biologischen, chemischen oder zellbiologischen Assays mit hohem Probendurchsatz (HTS), enthaltend eine Mikroplatte mit einer Vielzahl von in Zeilen und Spalten angeordneten Kavitäten, eine Dispensiereinheit mit einer festen Anzahl von Dispensierspitzen, die über der Mikroplatte angeordnet ist, ein Tischsystem zum relativen Bewegen der Mikroplatte gegenüber der Dispensiereinheit, ein optisches System zur Übertragung von Lumineszenzlicht, das in den Kavitäten der Mikroplatte infolge der Dispensierung angeregt wird, auf eine CCD-Kamera, wobei das optische System und die CCD-Kamera unterhalb der Mikroplatte angeordnet sind und sich alle vorgenannten Komponenten in einem lichtdichten Gehäuse befinden, dadurch gelöst, dass die Dispensiereinheit wenigstens einen linearen, symmetrisch baumartig strukturierten Dispensierkamm aufweist, wobei der Dispensierkamm eine gerade Anzahl von Dispensierdüsen enthält, die einen ganzzahligen Teiler der Zahl der Kavitäten in einer Dimension der Mikroplatte darstellt, dass die Dispensierkämme orthogonal zu deren Längsausdehnung verschiebbar angeordnet sind, um sukzessive einen vorgewählten Bereich zu dispensieren, dass jeder Dispensierkamm an eine steuerbare Pumpe zur Dosierung der zu dispensierenden Flüssigkeitsmenge angeschlossen ist, um ohne Eintauchen in die Kavitäten der Mikroplatte zu dispensieren, und dass die CCD-Kamera mittels des optischen Systems auf einen großflächigen, rechteckigen Bereich der Unterseite der Mikroplatte gegenüber der Dispensiereinheit ausgerichtet ist, wobei die Fläche in einer Dimension an die Längsausdehnung des Dispensierkamms und in der anderen Dimension an den durch die Verschiebung des Dispensierkamms überstrichenen Bereich der Mikroplatte angepasst ist, so dass in jeder der aufeinanderfolgend dispensierten Spalten von Kavitäten der Mikroplatte ein zeitlicher Verlauf der Lumineszenz gleichzeitig mit der fortgesetzten Dispensierung messbar ist.

[0018] Vorteilhaft ist die Anzahl der Düsen eines Dispensierkamms gleich der Anzahl der Kavitäten (Wells) in den Spalten der Mikroplatte, wobei der Kamm relativ zur Mikroplatte dann ausschließlich in einer Richtung, die orthogonal zur Längsausdehnung des Kamms ist, kontinuierlich verschoben zu werden braucht.

[0019] Zur Erhöhung der Flexibilität der Dispensierung verschiedener Mikroplatte ist es zweckdienlich, die Anzahl der Düsen des Dispensierkamms kleiner als die Anzahl der Wells der Spalten der Mikroplatte derart zu wählen, dass die Anzahl der Wells in den

Spalten der Mikroplatte ein ganzzahliges Vielfaches der Anzahl der Dispensierdüsen des Kammes ist, wobei nach der spaltenweisen Verschiebung des Dispensierkammes quer zu seiner Längsausdehnung (in x-Richtung) die Mikroplatte um so viele Zeilenabstände in Längsrichtung des Kammes (in y-Richtung) verschiebbar ist, wie der Anzahl der Düsen des Dispensierkammes entspricht, um danach die Verschiebung des Dispensierkammes in x-Richtung zu wiederholen.

[0020] Es erweist sich als vorteilhaft, wenn die Dispensiereinheit mehrere parallel zueinander angeordnete Dispensierkämme aufweist, die starr miteinander gekoppelt und jeweils über der von der CCD-Kamera beobachteten Fläche der Mikroplatte verschiebbar angeordnet sind.

[0021] Damit können die Dispensierkämme zweckmäßig zur aufeinanderfolgenden Dispensierung unterschiedlicher Substanzen in dieselben Wells der Mikroplatte verwendet werden. Dabei kann es ferner vorteilhaft sein, dass die Dispensiereinheit zusätzlich je Dispensierkamm steuerbare Ventile zur Umschaltung zwischen verschiedenen Dispensiersubstanzen aufweist, wobei die Ventile der Pumpe jedes Kammes vorgeordnet sind. Hierdurch kann die Flexibilität bei der Zugabe von verschiedenen Reagenzien zu den Proben einer oder verschiedener Mikroplatten bei laufendem Betrieb weiter erhöht werden. Für diesen Zweck ist neben der Mikroplatte eine Abfallwanne vorgesehen, in die nach Umschaltung des Ventils der alte Flüssigkeitsinhalt aus dem Kamm, der Pumpe und den Verbindungsschläuchen entleert wird.

[0022] In einer weiteren Gestaltung der Dispensiereinheit mit mehreren gekoppelten Dispensierkämmen sind die Dispensierkämme vorteilhaft zur aufeinanderfolgenden Dispensierung ein und derselben Substanz in unterschiedliche Wells der Mikroplatte vorgesehen.

[0023] Mehrere Dispensierkämme sind auch dann zweckmäßig anzuwenden, wenn die Düsen eines Dispensierkammes den mehrfachen Abstand der Wells der Mikroplatte aufweisen. Das ist z.B. bei Verwendung von Kämmen mit 4,5-mm-Düsenabstand für eine 1536er Mikroplatte (mit 2,25 mm Wellabstand) der Fall, wobei dann mit einem ersten Kamm nur die ungeraden und mit einem zweiten Kamm die geraden Kavitäten in den Spalten der Mikroplatte dispensierbar sind. Dadurch können die für 96er und 384er Mikroplatte verwendeten Dispensierkämme auch für die derzeit größten Standard-Mikroplatten (mit 1536 Wells) verwendet werden, indem die zwei Dispensierkämme um den halben Düsenabstand versetzt parallel zueinander angeordnet sind.

[0024] Das Anpassen von größerem Düsenabstand des Dispensierkammes gegenüber einem engeren Raster der Mikroplatten-Wells kann aber auch in anderer Weise geschehen. Dazu ist zweckmäßig nur ein Dispensierkamm so angeordnet, dass er entlang seiner Längsausdehnung relativ zur Mikroplatte um den halben Düsenabstand des Kammes verschieb-

bar ist.

[0025] Einerseits kann die relative Verschiebung des Dispensierkammes um einen Bruchteil des Düsenabstandes vorteilhaft durch Verschieben der Mikroplatte zwischen zwei oder mehreren unterschiedlichen Positionen mittels des Tischsystems in y-Richtung und andererseits durch Verschieben der Dispensiereinheit zwischen zwei oder mehreren unterschiedlichen Positionen in y-Richtung bei unveränderter Lage der Mikroplatte geschehen, wobei jeweils zwischen den Verschiebeschritten in y-Richtung die fortlaufende x-Verschiebung des Kammes zur Dispensierung und gleichzeitigen Beobachtung angefahrenen Zeile der Mikroplatten-Wells erfolgt.

[0026] Für die optische Messung des schwachen Lumineszenzlichts weist das optische System der CCD-Kamera zweckmäßig ein lichtstarkes Objektiv und einen elektronenoptischen Lichtverstärker sowie eine verkleinert abbildende Relayoptik auf. Der Lichtverstärker kann aber bei einer gekühlten CCD-Kamera möglicherweise auch entfallen.

[0027] Als lichtstarkes Objektiv des optischen Systems kann vorteilhaft ein kommerzielles Objektiv, mit dem die Mikroplatte vollständig auf den Chip der CCD-Kamera abgebildet wird, eingesetzt werden.

[0028] In besonders vorteilhafter Weise ist als lichtstarkes optisches System ein telezentrisches Objektiv mit großer numerischer Apertur vorgesehen, mit dem vorzugsweise ein rechteckiger Ausschnitt der Mikroplatte (eine sogenannte Kachel) auf den Chip der CCD-Kamera abbildbar ist, wobei oberhalb des so definierten Gesichtsfeldes der CCD-Kamera die Dispensiereinheit angeordnet und deren Verschiebbereich an das verfügbare Gesichtsfeld der CCD-Kamera angepasst ist. Dabei wird die Mikroplatte vorzugsweise in acht gleichgroße rechteckige Abschnitte (Kacheln) unterteilt, die nacheinander mittels des x-y-Tischsystems lückenlos und nicht überlappend in das Gesichtsfeld der CCD-Kamera einführbar sind, wobei die längere Kante des Chip der CCD-Kamera in Richtung der kurzen Seite der Mikroplatte ausgerichtet ist, um die Seitenverhältnisse von CCD und Kachel der Mikroplatte weitgehend anzugleichen und das Gesichtsfeld der CCD-Kamera voll auszunutzen.

[0029] Zur Anpassung an unterschiedliche Mikroplatten-Typen ist es vorteilhaft, eine Adapter-Halterung zur Befestigung auf dem Tischsystem vorzusehen, die bei unterschiedlicher Plattenhöhe von Mikroplatten eine konstante Höhe der oberen Oberfläche der untersuchten Mikroplatte gewährleistet. Zur Einstellung einer scharfen Abbildung der Wells der Mikroplatte auf den Chip der CCD-Kamera ist dabei zweckmäßig eine Stelleinheit zum vertikalen Verschieben des gesamten Optik- und Kamerablocks vorhanden. Es kann aber auch vorteilhaft eine komplette Autofokuseinheit vorhanden sein.

[0030] Die Grundidee der Erfindung basiert auf der Überlegung, das für die in der Biochemie oder Pharmakologie erforderlichen massenhaften Untersu-

chungen von Assays in einem HTS-Regime die zunehmende Forderung nach Flexibilität der Dispensier- und Beobachtungsgeräte daran scheitert, dass zur Anwendung verschiedener Mikroplatten entweder Dispensierköpfe gewechselt werden müssen oder eine Zwischenspülung erforderlich ist, die bei unterschiedlicher Anzahl von Wells eine Mehrfachpipettierung der Mikroplatte mit geringerer Anzahl von Dispensierspitzen gestattet. Außerdem ist eine sofort mit der Dispensierung der Wells einsetzende Messung stets ein Problem, wenn pro Mikroplatte in mehreren Schritten dispensiert wird, wobei die großflächige Beobachtung aller Wells an der geforderten hohen Nachweisempfindlichkeit für Lumineszenzstrahlung scheitert und die Einzelbeobachtung der Wells wegen der erforderlichen Messzeit für eine Verlaufsbeobachtung die Fortsetzung der Dispensierschritte behindert. Diese konkurrierenden Phänomene werden gemäß der Erfindung durch den Einsatz wenigstens eines linearen, symmetrisch baumartig strukturierten Dispensierkammes, der eine gerade Anzahl von Dispensierdüsen, die einen ganzzahligen Teiler der Zahl der Wells in einer Dimension der Mikroplatte darstellt, aufweist, an eine steuerbare Pumpe zur Dosierung der zu dispensierenden Flüssigkeitsmenge (ohne Eintauchen in die Wells der Mikroplatte) angeschlossen ist und orthogonal zu seiner Längsausdehnung verschiebbar ist, um sukzessive einen vorgewählten Bereich zu dispensieren. Mindestens dieser vorgewählte rechteckige Bereich wird auf der Unterseite der Mikroplatte gegenüber der Dispensiereinheit mit einem sehr lichtstarken Objektiv und ggf. zusätzlich durch einen Lichtverstärker intensivierte CCD-Kamera bei laufender Dispensierung beobachtet, so dass ein zeitlicher Verlauf der Lumineszenz gemessen werden kann.

[0031] Mit der erfindungsgemäßen Lösung ist es möglich, eine Vielzahl von Einzelproben in Multiprobenanordnungen, wie Mikroplatten, zu dispensieren und gleichzeitig die emittierte Lumineszenz in ihrem zeitlichen Verlauf zu beobachten sowie dabei einen hohen Probendurchsatz (HTS) zu realisieren. Die Einrichtung gemäß der Erfindung zeichnet sich durch hohe Flexibilität bezüglich der Vermessung verschiedener Mikroplatten-Typen und -Größen aus und gestattet ohne wesentliche Verzögerung des HTS-Prozesses die Anwendung mehrerer verschiedener Dispensiersubstanzen auf eine Mikroplatte sowie eine unterschiedliche Dosierung von Dispensiersubstanzen in unterschiedlichen Spalten der Mikroplatte.

Ausführungsbeispiel

[0032] Die Erfindung soll nachstehend anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden. Die Zeichnungen zeigen:

[0033] Fig. 1: eine Prinzipansicht der erfindungsgemäßen Einrichtung,

[0034] Fig. 2: eine Variante des optischen Abtastsystems mit herkömmlicher lichtstarkem Objektiv,

[0035] Fig. 3: eine Variante des optischen Abtastsystems mit einem lichtstarkem telezentrischen Objektiv,

[0036] Fig. 4: eine Prinzipdarstellung der Anpassung der abgebildeten Abschnitte der Mikroplatte gegenüber dem Chip der CCD-Kamera mit einem telezentrischen Objektiv,

[0037] Fig. 5: eine Prinzipdarstellung der Anpassung der abgebildeten Abschnitte der Mikroplatte gegenüber dem Chip der CCD-Kamera mit einer Faserplatte zur optischen Abbildung anstelle eines Objekts,

[0038] Fig. 6: eine Gestaltung der Dispensiereinheit für die Anwendung zweier versetzter Dispensierkämme für Mikroplatten, die ein engeres Rastermaß als die Düsen des Dispensierkammes aufweisen,

[0039] Fig. 7: eine Variante der Dispensiereinheit für mehrere unterschiedliche Dispensierflüssigkeiten,

[0040] Fig. 8: eine schematische Darstellung unterschiedlicher MP-Adapter zur Anpassung an unterschiedliche Bodendicken von Mikroplatten,

[0041] Fig. 9: eine schematische Darstellung einer Positioniereinrichtung zur Justierung der Dispensiereinheit gegenüber dem Tischsystem.

[0042] Die erfindungsgemäße Einrichtung besteht in ihrem Grundaufbau – wie aus Fig. 1 zu entnehmen – aus einem Tischsystem 1 mit zugehöriger Tischsteuerung 11, einer darauf aufgelegten Mikroplatte (MP) 2, einer Dispensiereinheit 3 mit Dispensiersteuerung 31, einem CCD-Kamera-Block 4 mit Kamerasteuerung 41 sowie einem übergeordneten Rechner 5, der vorzugsweise ein PC zur Ablaufsteuerung und Koordinierung von Dispensierung, Bildaufnahme, Aufbereitung, Speicherung und Ausgabe/Anzeige der optischen Messdaten vorgesehen ist.

[0043] Das Tischsystem 1 ist ein x-y-Tisch, obgleich für spezielle Anwendungen der erfindungsgemäßen Einrichtung nur eine Bewegung in y-Richtung zur Zuführung der MP 2 in die Einrichtung erforderlich ist. Die MP 2 weist eine Vielzahl von Kavitäten (Wells) 21 auf, in denen sich die zu dispensierenden und bezüglich Lumineszenz zu vermessenden Proben befinden. Die Wells 21 sind geordnet in Zeilen und Spalten in der MP 2 und in festem Raster angeordnet, dessen Rastermaß von der Dichte (d.h. der Anzahl der Wells 21) der MP 2 abhängt. Es werden derzeit vorrangig standardisierte 96er, 384er und 1536er Platten verwendet, die in der erfindungsgemäßen Einrichtung in gleicher Weise bearbeitet, d.h. dispensiert und vermessen, werden können, ohne dass das geforderte HTS-Regime durch die Anpassung des Dispensier- und Messregimes an die Anzahl der Wells 21 der MP 2 beeinträchtigt wird. Die Erfindung ist aber auch leicht an beliebige andere MP-Formate (192er, 864er, 2400er, 3456er, 6144er MP) anpassbar, weil die Anzahl der Wells je Spalte bzw. je Zeile jeder beliebigen MP stets ein Vielfaches von 8 bzw. 12 ist und demzufolge lediglich eine Anpassung der Düsenabstände und/oder -anzahl der Dispensiereinheit 3 erforderlich ist.

[0044] Üblicherweise erfolgt die Flüssigkeitszugabe innerhalb des lichtdichten Gerätes (nicht dargestellt) über eine Dispensierpumpe 33 mit einem angeschlossenen Dispensierkamm 32 (wie auch noch ausführlicher zu Fig. 7 beschrieben). Die Düsen 321 des Kamms 32 treffen exakt in die einzelnen Wells 21 einer MP 2.

[0045] Die in Fig. 1 oberhalb der MP 2 angeordnete Dispensiereinheit 3 hat einen speziell gestalteten Dispensierkamm 32, der acht linear angeordnete Dispensierdüsen 321 aufweist. Der Kamm 32 besitzt eine symmetrische baumartig verzweigte Struktur, wobei – wie in Fig. 1 angedeutet und aus der DE 199 11 456 A1 prinzipiell bekannt – der von einer Pumpe 33 kommende Zufuhrkanal jeweils symmetrisch paarweise verzweigt und nach jeder Verzweigung entsprechend verjüngt ist, so dass an allen Dispensierdüsen 321 derselbe Druck und der gleiche Volumenstrom auftritt, wenn die Pumpe 33 eine bestimmte Menge der Dispensierflüssigkeit fördert. Die Dispensierdüsen 321 dispensieren ohne Kontakt zu den vorhandenen Flüssigkeiten in den Wells 21, d.h. es gibt keine Probenverschleppung. Die abgegebenen Volumina der einzelner Düsen 321 sind sehr konstant, da alle Düsen 321 den gleichen Druck erfahren und da die Pumpe 33 mit einem sehr genauen Schrittmotor arbeitet. Der gleiche, konstante Druck wird erreicht durch die interne, symmetrische Kanalstruktur im Kamm 32.

[0046] Mit diesem speziellen Dispensierkamm 32 wird – im Gegensatz zu den herkömmlichen Pipettierköpfen, die in die Wells der MP eintauchen und zu diesem Zweck in z-Richtung abgesenkt werden müssen – die Dispensierflüssigkeit definiert abgetropft (d.h. genau genommen gespritzt) und die Dispensiereinheit 3 stets in derselben Höhe der z-Koordinate belassen. Die Dispensiereinheit 3 wird aber orthogonal zu Längsausdehnung des Kamms 32 in x-Richtung gegenüber der MP 2 (d. h. üblicherweise gegenüber der Zeilenrichtung der MP 2) bewegt. Das geschieht einerseits, um den Mangel der zweiten Dimension des Dispensierkamms 32 zu kompensieren, aber andererseits vor allem deshalb, um in dem vom CCD-Kamerablock 4 erfassten Bildfeld (Gesichtsfeld) jeweils bei kontinuierlich fortschreitender Dispensierung eine simultane Lumineszenzmessung zu erreichen, die beginnend mit der Dispensierung für ein bestimmtes Zeitfenster (im Sekundenbereich bis einige 10 s) eine Verlaufsmessung der Lumineszenz gestattet.

[0047] Die dargestellte Einrichtung kann alle bekannten MP-Formate (z.B. MP 2 mit 96, 192, 384, 864, 1536, 2400, 3456, 6144 Wells 21) verarbeiten, obwohl im Folgenden nur auf die Standard-MP mit 96, 384 oder 1536 Wells eingegangen werden soll.

[0048] Bei den letztgenannten Standard-MP existieren in y-Richtung Spalten mit 8, 16 oder 32 Wells, die sich in x-Richtung mit Zeilen von 12, 24 bzw. 48 Wells kreuzen. Der größte gemeinsame Teiler (8 bzw. 12) der Zahl der Wells 21 der MP 2 in einer ihrer beiden

Dimensionen wird als die Anzahl der Düsen 321 im Dispensierkamm 32 gewählt, um die Gesamteinrichtung für alle genannten Standard-MP-Größen einsetzen zu können. Wegen der besseren Steuerbarkeit des Druckes in einem Kamm 32 mit wenigen Düsen 321 ist die Richtung des Kamms 32 vorzugsweise in der kürzeren Dimension der MP 2 (in y-Richtung, die üblicherweise in Zufuhrrichtung = Hauptvorschubrichtung der MP 2 liegt) ausgerichtet.

[0049] Falls der Kamm 32 jedoch mit 12 Düsen 321 ausgerüstet ist, so kann er in äquivalenter Weise in x-Richtung orientiert sein und in y-Richtung verschoben werden. Die Verschieberichtung der Dispensiereinheit 3 gegenüber der MP 2 kann also in Abhängigkeit vom verwendeten Kamm 32 auch anders gewählt werden.

[0050] Stimmt die Anzahl der Dispensierdüsen 321 mit der Anzahl der Wells 21 in einer der Dimensionen der MP 2 überein, so ist der Dispensiervorgang für die gesamte MP 2 in einem Zuge realisierbar, wie es in Fig. 1 – ohne Beschränkung der Allgemeinheit – angedeutet ist. Für einen solchen Fall zeigt Fig. 2 den Aufbau eines CCD-Kamerablockes 4, mit dem (beispielsweise bei der Dispensierung einer 96er MP 2 mit einem mit acht Düsen 321 ausgestatteten Dispensierkamm 32) die MP 2 komplett in einem Bild von der CCD-Kamera 42 beobachtet wird. Da eine MP 2 gleichzeitig zur Beobachtung mit Dispensierflüssigkeit versehen werden soll, ist der Kamerablock 4 unterhalb der MP 2 angeordnet, wobei die MP 2 einen transparenten Boden aufweisen muss. Der Dispensierkamm 32 wird während der Bildaufnahme kontinuierlich in x-Richtung über die gesamte MP 2 bewegt und dispensiert spaltenweise mit acht gleichzeitigen „Schüssen“ oder „Schussalven“, d.h. mit einheitlich dosierter und synchroner Flüssigkeitsabgabe (als Strahl oder sogenannter Jet) aus allen Düsen 321 des Kamms 32, die Wells 21 der MP 2. Dabei nimmt die CCD-Kamera 42 fortlaufend Bilder von der gesamten Unterseite der MP 2 auf und legt synchron mit Beginn der Dispensierung der Wells 21 (spaltenweise) zugeordnete Beobachtungsfenster an, in denen der zeitliche Verlauf der durch die Dispensierung ausgelösten Lumineszenz erfasst und im PC 5 geordnet abgelegt wird. Der PC 5 hat dabei die Mastersteuerungsfunktion zur Synchronisation der spaltenweisen Dispensierung und der geordneten Auslesung der Lumineszenzmesswerte. Die Dispensiereinheit 3 mit dem Kamm 32 ist körperlich über dem empfindlichsten mittleren Bereich des Gesichtsfeldes der Kamera 42 positioniert.

[0051] Die 12 Spalten einer 96er MP 2 werden mit einem Verschiebevorgang der Dispensiereinheit 3 abgearbeitet. Hierbei wird ein Kamm 32 eingesetzt, dessen Düsen 321 einen Abstand von 9 mm aufweisen, der dem Mittenabstand zweier Wells 21 einer 96er MP 2 entspricht.

[0052] Bei einer 384er MP 2 wird der x-y-Tisch 1 so verfahren, dass zuerst die ersten acht Zeilen Spalte für Spalte der MP 2 durch kontinuierliches Verschie-

ben des Kammes 32 mit Dispensiersubstanz gefüllt (getropft) werden. Anschließend wird die MP 2 mittels des Tischsystems 1 in y-Richtung um acht Zeilen verschoben, um den zweiten Zeilenbereich zu bearbeiten. Hierfür wird ein Kamm 32 verwendet, dessen Düsen 321 einen Abstand entsprechend dem Mittenabstand (4,5 mm) zweier Wells 21 einer 384er MP 2 besitzen.

[0053] Der Einsatz einer CCD-Kamera 42 zur Messung des Lumineszenzlichtes ist nur deshalb möglich, weil die CCD-Kamera 42 „intensiviert“ ist, d.h. sie ist mit einem sehr lichtstarken kommerziellen Objektiv 44 (z.B. Leica #1, f=50 mm, mit objektseitiger numerischer Apertur von $NA=0,08$) und einem Restlichtverstärker 43 (Mikrokanalplattenverstärker ähnlich einem Nachtsichtgerät, engl.: micro channel plate oder auch image intensifier) ausgerüstet und hat eine normale Videorate von 25 Bildern pro Sekunde. Damit ist über eine leicht verkleinernde Relay-Optik 45, die zwischen Restlichtverstärker 43 und CCD-Kamera 42 angeordnet ist, eine vollständige Abbildung mit 5,5-fachen Verkleinerung der MP 2 auf dem Kamerachip 421 gegeben. Bei der Abbildung wird das in den einzelnen Wells 21 erzeugte Lumineszenzlicht von der Unterseite der MP 2, die sich in der Objektebene des Objektivs 44 befindet, auf den Restlichtverstärker 43, bestehend aus Faserplatte, Elektronenoptik und Mikrokanalplatte (nicht einzeln dargestellt), übertragen. Die Faserplatte nimmt das Lumineszenzlicht auf und leitet es auf die Katode der Elektronenoptik. Die dort herausgeschlagenen Elektronen werden beschleunigt und 1:1 auf eine Mikrokanalplatte abgebildet, die wie eine Vielzahl von Elektronenvervielfachern (PMT) wirkt und an deren Ausgangsseite die Elektronen auf einen Phosphorschirm treffen. Pro einfallendem Photon werden hierbei einige Hundert Photonen erzeugt, die über die Relay-Optik 45 auf den Kamerachip 421 abgebildet werden.

[0054] Eine noch lichtstärkere CCD-Kamera 42 zeigt Fig. 3 mit einem weiter modifizierten Kamerablock 4. Dieses Ausführungsbeispiel ist insbesondere auf 384er und 1536er MP 2 zugeschnitten, da mit zunehmender Welldichte (und damit abnehmenden Volumen pro Well) der MP 2 eine lichtstärkere optischen Abbildung wünschenswert ist und die größere Anzahl von Wells 21 – aufgrund der für die Tropf-Dispensierung derzeit begrenzten Länge der Dispensierkämme 32 – eine (zumindest in Zeilenrichtung der MP 2) abschnittsweise Abtastung notwendig macht.

[0055] Die vorgenannten Erfordernisse werden durch Einsatz eines lichtstarken telezentrischen Objektivs 46 im Zusammenwirken mit einer Unterteilung der MP 2 in mehrere gleichgroße rechteckige Abschnitte (nachfolgend Kacheln 22) erfüllt.

[0056] Die Dispensiereinheit 3 wird dabei jeweils nur über die Breite d (nur in Fig. 4 bezeichnet) einer Kachel 22 verschoben. Die Länge c der Kachel 22 stimmt mit der Längsausdehnung des Kammes 32 überein. Nach dem Verschieben der Dispensiereinheit 3 über eine Kachel 22 und Abwarten der Mess-

zeit zur Erfassung des Verlaufs der Lumineszenz (für Flash-Lumineszenz s 20 Sekunden) bewegt der (nur in Fig. 1 dargestellte) x-y-Tisch 1 die aufliegende MP 2 auf eine neue Position für die Dispensierung und Messung der nächsten Kachel 22. Das Muster der Bewegung des Tischsystems 1 ist dabei beliebig wählbar. Die „intensivierte CCD-Kamera“ umfasst in diesem Beispiel den Kamerablock 4 gemäß Fig. 3. Die Lichterzeugung erfolgt entsprechend der Dispensierung in den einzelnen Wells 21 der angefahrenen Kachel 22 der MP 2. Das lichtstarke telezentrische Objektiv 46 (z.B. mit einer numerische Apertur von $NA = 0,45$ erzeugt ein Bild von $1/8$ der MP 2 auf einem Taper 47, der optisch verbunden ist mit dem Eingang des (bereits im vorherigen Beispiel beschriebenen) Restlichtverstärkers 43. Dabei nimmt eine Faserplatte das Licht mit einer Apertur von $NA \approx 0,9$ auf und leitet es – wie oben beschrieben – innerhalb des Restlichtverstärkers 43 weiter. Über die Relay-Optik 45 wird das photonenvervielfachte Bild auf die CCD-Kamera 42 abgebildet. Es ergibt sich eine Gesamtverkleinerung von einem Faktor 6 des Gesichtsfeldes von $1/8$ der MP 2, so dass für das vorgenannte telezentrische Objektiv 46 die MP 2 in acht Bleichgroße Kacheln 22 unterteilt wird, um die gleichzeitige Dispensierung und Vermessung der Lumineszenz vorzunehmen.

[0057] Zur Anpassung des Gesichtsfeldes der CCD-Kamera 42 an das Format der Kacheln 22 zeigt Fig. 4 noch einmal stilisiert die Gegebenheiten von Fig. 3, wobei die Abmessungen der gleichgroßen Kacheln 22 mit $c \times d$ und die Fläche des Kamerachip 421 mit $a \times b$ angegeben sind. Folgende Kachel-Größen (Zeilen mal Spalten) werden bei dem jeweiligen MP-Typ abgebildet:

96er: 4×3 ; 384er: 8×6 ; 1536er: 16×12 .

[0058] Die 96er MP 2 soll an dieser Stelle nicht ausführlich behandelt werden, da hier ein Kamm 32 mit nur vier Düsen 321 eingesetzt wird, der jedoch genauso gehandhabt werden muss, wie in den nachfolgenden Beispielen die Kämme 32 mit acht Düsen 321.

[0059] Die Abarbeitung der größeren MP 2 geschieht analog wie bereits oben beschrieben. Bei einer 384er MP 2 werden die sechs Spalten einer Kachel 22 unmittelbar aufeinanderfolgend dispensiert, während die CCD-Kamera 42 kontinuierlich Bilder dieser Kachel 22 aufnimmt. Anschließend wird die MP 2 insgesamt versetzt (durch den x-y-Tisch 1) und somit das Gesichtsfeld der CCD-Kamera 42 auf die nächste Kachel 22 gerichtet und die nächsten 6 Spalten dispensiert.

[0060] In gleicher Weise wie in Fig. 4 ist die Vorgehensweise der Dispensierung/Abtastung bei Fig. 5 vorgesehen. Unterschiedlich ist aber erneut die optische Realisierung des Kamerablocks 4, der in diesem Beispiel aus einer parallelen Faserplatte 48 (mit 1:1-Abbildung), einem Restlichtverstärker 43 und einem Taper zur Reduzierung der Abbildungsgröße besteht. Die Besonderheit besteht in der Notwendigkeit

eines Kontaktes der Faserplatte 48 mit dem Boden der MP 2. Die Faserplatte 48 weist nämlich eine nahezu 90°-Apertur auf, die die Auflage der MP 2 erforderlich macht. Dazu ist eine Stelleinheit 49 am Kamerablock 4 vorgesehen, mit der bei einem Wechsel einer MP 2 gegen die nächste oder beim Verfahren des Tisches 1 zum Erreichen der nächsten Kachel 22 eine Absenkung der Optik erfolgt. Nach der Verschiebung der MP 2 wird dann der Kamerablock 4 erneut mit der MP 2 in Kontakt gebracht. Gleichwertig könnte aber auch das x-y-Tischsystem 1 eine Höhenverstellung aufweisen oder es könnte eine Kulissenführung zum Anheben und Absenken der MP 2 im Tisch 1 vorhanden sein.

[0061] Für eine 1536er MP 2 zeigt Fig. 6 eine Gestaltungsvariante der Erfindung, bei der ebenfalls ein Kamm 32 mit acht Düsen 321 (mit 4,5 mm Düsenabstand) eingesetzt werden kann. Dieses Beispiel beschneidet nicht die Möglichkeit, für eine 1536er MP 2 einen Kamm 32 mit 16 Dispensierdüsen 321 einzusetzen, sondern soll den Einsatz eines Kammes 32 mit acht Düsen 321 (von 4,5 mm Abstand) als eine Art Standard verwenden.

[0062] Dazu wird die in Fig. 6 dargestellte Doppelkammmanordnung eingesetzt, bei der in der Dispensiereinheit 3 für Kamm 32a und 32b jeweils eine Pumpe 33 vorhanden ist (nur in Fig. 6 gezeigt). Die Kämme 32a und 32b sind in Richtung ihrer Düsen 321 um 2,25 mm (d.h. den Wellabstand einer 1536er MP) versetzt an der Dispensiereinheit 3 angebracht. Infolge der Baugröße des Kammkörpers ist auch in der x-Richtung der MP 2 ein Versatz von wenigstens zwei Wells 21 vorhanden, der jedoch durch zeitlich versetztes Beginnen und Beenden des Dispensierens mit den Kämmen 32a und 32b bei kontinuierlichem Abtasten eines Kachelabbildes mittels der CCD-Kamera 42 sowie durch geordnetes Ablegen der Lumineszenzmesswerte als fiktiv versetztes (geschachteltes) Öffnen und Schließen von Abtastfenstern nach realer Spaltenzugehörigkeit der Wells 21 einfach bereinigt werden kann.

[0063] Bei der Gesamtabtastung der MP 2 wird mit dem vorstehend beschriebenen Modus zuerst eine erste Hälfte der MP 2 (oder eine Kachel 22 davon) in das Gesichtsfeld der CCD-Kamera 42 verschoben.

[0064] Dabei werden zweckmäßig zwei 8fach-Kämme 32a und 32b verwendet, die in einem festen x- und y-Abstand zueinander angeordnet sind. Jeder Kamm 32a bzw. 32b hat einen festen Düsenabstand von 4,5 mm, so dass nur jedes zweite Well 21 dispensiert werden kann. Beide Kämme 32a und 32b fahren gemeinsam mit konstanter Geschwindigkeit über die MP 2. Damit lassen sich verschiedene Dispensiermodi durchführen:

a) Beide Kämme 32a und 32b dispensieren die gleiche Flüssigkeit. Die Kämme 32a und 32b müssen nacheinander an den Rändern der MP 2 aktiviert und deaktiviert werden. Daraus ergibt sich der Vorteil eines schnelleren Dispensierens der gesamten MP 2 oder einer Kachel 22 davon.

b) Beide Kämme 32a und 32b dispensieren unterschiedliche Flüssigkeiten. In diesem Fall weisen beide Kämme 32a und 32b dieselbe y-Position auf. Hierbei können sehr schnell hintereinander zwei Dispensiersubstanzen zugegeben werden, deren gemeinsame Wirkung die Lichtreaktion auslöst. Es wird allerdings nur jedes zweite Well 21 der Spalten der MP 2 dispensiert, so dass die MP 2 nach Abarbeitung aller Spalten um einen Wellabstand in y-Richtung versetzt werden muss. Es kann aber in äquivalenter Weise auch zusätzlich ein weiterer Doppelkamm um 2,25 mm parallel versetzt zu den beiden ersten Kämmen 32a und 32b angeordnet sein oder es sind zwei Kämme 32a und 32b vorhanden, deren Düsen 321 den gleichen Abstand wie die Wells 21 auf der MP 2 aufweisen.

[0065] Eine andere Variante des vorstehend beschriebenen Dispensierprinzips, wenn die Dispensiereinheit 3 nur einen Kamm 321 aufweist, ist leicht aus Fig. 6 ableitbar und kann demzufolge äquivalent angewendet werden. In diesem Fall wird – sehr ähnlich der Beschreibung zu Fig. 6 – eine 1536er MP 2 abgearbeitet, indem von allen Spalten der MP 2 (von links nach rechts in positiver x-Richtung) zuerst nur die ungeradzahigen Zeilen dispensiert werden. Anschließend wird die MP 2 in y-Richtung um ein Well 21, d.h. 2,25 mm (Wellabstand einer 1536er MP), versetzt, damit dann die geraden Zeilen aller Spalten dispensiert werden können. Auf diese Weise werden alle sechzehn Wells 21 jeder Spalte betroffen. Anschließend wird der x-y-Tisch 1 in einen zweiten Zeilenbereich verschoben und die gleiche Prozedur für die zweiten 16 Zeilen wiederholt.

[0066] Bei der Vermessung der 1536er MP 2 mit einem telezentrischen Objektiv 46 (gemäß Fig. 3 und Fig. 4) werden entsprechend – wie oben beschrieben, mit jeweils einem 2,25 mm-Zwischenschritt – die einzelnen Kacheln 22 in gleicher Weise über das Gesichtsfeld der Kamera 42 verfahren. Der erfindungsgemäß auch für die 1536er MP eingesetzte 8fach-Kamm 32 mit 4,5 mm Düsenabstand wird, da der Wellabstand 2,25 mm beträgt und der Kamm 32 somit nur jedes zweite Well erreicht, in jeder Kachel 22 zuerst für die ungeraden acht Zeilen 1,3,5,...15 benutzt und danach, wenn die MP 2 um 2,25 mm in y-Richtung verschoben wurde, werden die geraden Zeilen 2, 4, 6,...16 derselben Kachel dispensiert, bevor die MP 2 zur Dispensierung und Beobachtung der nächsten Kachel 22 verschoben wird.

[0067] Da die Kämme 32 ohne ein Wechseln der Pumpe 33 leicht austauschbar sind, ist die erfindungsgemäße Einrichtung an beliebige zu untersuchende MP 2 und jede Dispensiersituation leicht anzupassen. Dabei wird man vorrangig solche Kammstrukturen auswählen, dass der Kamm 32 nach Möglichkeit nur in x-Richtung verfahren werden muss. Das trifft auch für die 1536er MP zu, wenn ein Kamm 32 mit entsprechend engen Abständen der Düsen

321 (2,25 mm) eingesetzt wird.

[0068] Ihren besonderen Vorzug erreicht die erfindungsgemäße Einrichtung mit einer Gestaltung gemäß Fig. 7.

[0069] Die in diesem Aufbau integrierte Flüssigkeitshandhabung ermöglicht es, dass verschiedene Dispensierflüssigkeiten auf eine MP 2 angewendet werden können. Das geschieht, wie prinzipiell im Stand der Technik bereits bekannt, durch zwei Dispensierkämme 32, die mit zeitlichem Versatz dieselben Spalten von Wells 21 dispensieren. Zusätzlich besteht eine Möglichkeit der Umschaltung aber auch pro Kamm 32, ohne dass ein Waschvorgang der Kämme 32 erforderlich wird. Dazu werden die unterschiedlichen Dispensierflüssigkeiten über Zuführungsschläuche 36 einem zweiwegigen Ventil 35 zugeführt, dass über einen Verbindungsschlauch 34 mit der jeweiligen Pumpe 33 eines Kamms 32 in Verbindung steht. Am Ventil 35 kann per Software zwischen den Dispensiersubstanzen gewählt werden. Danach fördert die Pumpe 33, die mit Schrittmotor gesteuert wird, präzise ein bestimmtes, aber einstellbares Volumen. Die geförderte Dispensiersubstanz wird in den Dispensierkamm 32 gedrückt, der das Volumen gleichmäßig auf die (beispielsweise acht) Düsen 321 verteilt. In der Fig. 7 sind zwei Pumpen 33 gezeigt, die sich – mechanisch verbunden – mit konstanter Geschwindigkeit über die MP 2 bewegen. Dies ist mit dem Doppelpfeil angedeutet. Zusätzlich ist die Bewegung der MP 2, wie in den vorherigen Beispielen beschrieben, möglich und ebenfalls mit Doppelpfeilen verdeutlicht.

[0070] Der Querschnitt der Düsen 321 ist so klein, dass der über die Pumpen 33 kurzzeitig angelegte Druck zu einem druckäquivalenten Ausstoß der vorgewählten Flüssigkeitsmenge und zu einem sauberen Abreißen von Tropfen oder Strahlen führt. Die Dispensierflüssigkeit hat eine hohe Austrittsgeschwindigkeit. Die Anzahl der Düsen 321 ist wiederum auf acht festgelegt. Der Druck wird von der per Schrittmotor gesteuerten Pumpe 33 aufgebaut. Jeder Kamm 32 muss einer eigenen Pumpe 33 zugeordnet sein. Die Zahl der Pumpen 33 ist in diesem Beispiel auf zwei beschränkt, da die meisten bekannten biochemischen Lichtreaktionen höchstens die Zugabe von zwei verschiedenen Dispensierflüssigkeiten benötigen.

[0071] Die Pumpgeschwindigkeit v muss für eine zu tropfende Flüssigkeit optimiert werden. Eine Flüssigkeit mit höherer Viskosität hat ein anderes Abrissverhalten als z.B. destilliertes Wasser. Dieser Parameter (Pumpgeschwindigkeit v) ist softwaregesteuert. Falls sich ein Tropfen nicht ablöst, würde er unkontrolliert beim nächsten Dispensiervorgang in das nächste Well 21 oder auf die Zwischenstege der MP 2 tropfen. Dies muss unbedingt verhindert werden. Daher kann die Pumpgeschwindigkeit entsprechend der Viskosität der Dispensierflüssigkeit eingestellt werden.

[0072] Die steuerbaren Ventile 35 und die Volumeneinstellung sind nicht zeitkritisch, da im HTS für einen

Assay konstante Volumina gefordert und ausgewählt werden. Daher könnten sie auch per Hand eingestellt werden. Trotzdem ist eine per Software einstellbare Volumeneinstellung vorgesehen. Dies erhöht die Flexibilität der erfindungsgemäßen Einrichtung, um auch zukünftige komplexe Anwendungen erfüllen zu können, falls eine MP 2 mehrmals mit verschiedenen Dispensierflüssigkeiten und -volumina betropft werden soll.

[0073] Mit dem Ventil 35 pro Pumpe 33 kann jeweils zwischen wenigstens zwei verschiedenen Dispensiersubstanzen gewählt werden. Das Ventil 35 hat die Aufgabe, auf unterschiedliche Zuführungsschläuche 36 umzuschalten.

[0074] Beim Umschalten zwischen den Dispensierflüssigkeiten muss allerdings die vorher benutzte Flüssigkeit entfernt werden. Dies geschieht in der Regel nach Abarbeitung einer ganzen MP 2, da der Kamm 32 und die Verbindungsschläuche 34 erst über einer Abfallwanne 6 entleert werden müssen. Auch hierfür kann eine automatische, softwaregesteuerte Version vorgesehen werden. Auf diese Weise können komplexere Assays abgearbeitet werden und es erhöht sich somit die Flexibilität des Gerätes.

[0075] Da das Volumen in der Pumpe 33, im Kamm 32 und in den Verbindungsschläuchen 34 sehr gering ist (lediglich 100 bis 200 μ l gegenüber einer Füllmenge von einigen Millilitern bei einem herkömmlichen Pipettierkopf für eine 384er MP), ist die Lösung gemäß der Erfindung wesentlich sparsamer im Verbrauch der Dispensierreagenzien. Außerdem erfordert der Wechsel (das Ausstoßen der ersten Reagens) kein Waschen und demzufolge nur eine kurze Unterbrechung der Dispensierung und Messung. Dazu ist – wie in Fig. 7 schematisch gezeigt – eine Abfallwanne 6 parallel zur MP 2 am Ende des Verschieberegions der Dispensierkämme 32 als schmaler Sammelbehälter angebracht, wobei der Flüssigkeitsrest der zuletzt benutzten Dispensierflüssigkeit aus Kamm 32, Pumpe 33 und Verbindungsschlauch 34 ausgestoßen wird, indem die neue Dispensierflüssigkeit im Wesentlichen zum Verdängen, aber auch zum Spülen verwendet wird.

[0076] Auf dem Markt gibt es unterschiedliche MP-Formate, deren Außenmaße zwar nahezu gleich sind, die je nach unterschiedlichem MP-Typ aber unterschiedliche Höhen der transparenten Böden aufweisen. Dies hat zur Folge, dass sowohl die Optik als auch der Dispensierkamm 32 höhenverstellbar sein müsste. Deshalb ist vorgesehen, dass die Oberkante der MP 2 stets in gleicher Höhe vorliegt, damit der Dispensierkamm 32 nicht in der Höhe verstellt zu werden braucht. Dazu weist der x-y-Tisch 1 – wie in Fig. 8 gezeigt – Adapterhalterungen 12 auf und wird mit auswechselbaren MP-Adaptoren 13 bzw. 14 (je nach Höhe des Bodens der verwendeten MP 2) bestückt, so dass nur die Optik an die jeweilige Höhe angepasst werden muss. Die Anzahl der auszutauschenden Adapter 13 oder 14 richtet sich nach der Anzahl der verarbeiteten MP 2. In Fig. 8 sind nur

zwei verschiedene Paare von Adapter 13 und 14 als austauschbar dargestellt, wobei für die dickere MP 2 (obere Darstellung) flachere MP-Adapter 13 und für dünnere MP-Böden höhere Adapter 14 vorgesehen sind.

[0077] Damit das Abbildungsverhältnis bestehen bleibt, ist der gesamte Kamerablock 4 in Richtung MP 2 mittels eines Stellantriebs 49, der Feintriebs- und Präzisionsführungen enthält (nur in Fig. 1 und Fig. 5 gezeigt), höhenverstellbar. Es kann aber auch ein Autofokussystem eingesetzt sein.

[0078] Die intensivierte CCD-Kamera 42 hat im Übrigen eine kalottenförmige Empfindlichkeitsverteilung mit einem zentralen Maximum und einem entsprechenden Randabfall. Deshalb ist es zweckmäßig, eine Kalibrierung vorzunehmen, um die Empfindlichkeit für das gesamte Gesichtsfeld der CCD-Kamera 42 durch elektronisch Korrektur homogen zu gestalten.

[0079] Der Dispensierkamm 32 fährt mit konstanter Geschwindigkeit über das Gesichtsfeld der Kamera 42. Aus den bekannten Daten – Abstand zweier Spalten einer MP 2, konstante Verfahrensgeschwindigkeit des Kamms 32 und definierte, parametrisierte Beobachtungszeit der Kamera 42 – ist das Zeitintervall zwischen zwei aufeinander folgenden Dispensierschritten leicht zu bestimmen. D.h., mittels einer Software wird berechnet, wann für jede dispensierte Spalte das Beobachtungszeitfenster öffnet und wieder schließt. Innerhalb des Zeitfensters werden die Signale jedes Wells 21 integriert. Das Fenster schiebt sich sozusagen mit dem Dispensierkamm 32 über die MP 2. Die Kinetiken aller Wells 21 können trotz des zeitlichen Versatzes normiert und übereinander gelegt dargestellt werden. Der Anwender hat den Eindruck einer gleichzeitigen Zugabe der Reagenzien in alle Wells 21 einer Kachel 22 oder einer MP 2, die der Beobachtung unterliegen.

[0080] Das zu dispensierende Volumen ist ebenfalls von der Software durch entsprechende Ansteuerung eines Schrittmotors in der bzw. den Pumpen 33 der Dispensiereinheit 3 einstellbar.

[0081] Da der Dispensierkamm 32 vorzugsweise acht Düsen aufweist, die linear in Spaltenrichtung der MP 2 ausgerichtet ein ganzzahliger Teiler der Anzahl der Wells 21 der MP 2 sind, ergibt sich hieraus eine vorteilhafte Flexibilität. Es können kleinere Bereiche der MP 2 (z.B. einzelne Spalten oder ggf. auch nur Teile davon) für Vergleichsmessungen mit anderen Volumina der Dispensiersubstanz – auch Nullvolumen (keine Zugabe) – dispensiert werden. Außerdem können per Software auch nur einzelne Spalten zur Dispensierung ausgewählt werden, was wiederum die Flexibilität erhöht und mit den derzeit verfügbaren Pipettiergeräten nicht möglich ist. Das dispensierbare Volumen kann auch beliebig verändert werden, indem eine bestimmte Anzahl von gleichen Zugabemengen („Schüsse“) pro Well 21 abgetropft bzw. abgeschossen werden. Dies hat den Vorteil einer gleichmäßigeren Durchmischung der Flüssigkeiten

über die Breite eines Wells 21 (insbesondere bei Proben- und/oder Dispensierflüssigkeiten mit großer Viskosität). Außerdem hat die mehrfache Zugabe konstanter Flüssigkeitsmengen den Vorteil, auch größere Mengen als das übliche Maximalvolumen oder in unterschiedlichen Spalten der MP 2 ein Mehrfaches z.B. einer „üblichen“ Zugabemenge zu dispensieren. Dabei bleibt das eingestellte Volumen stets konstant und es reduziert sich der Fehler der Volumeneinstellung. Eine solche Flexibilität der Volumeneinstellung haben kommerzielle Vielfachpipettierer (z.B. Hamamatsu) nicht, da bei letzteren das Dispensiervolumen – so wie einmal vorgegeben – einheitlich über alle Wells der gesamten MP abgegeben wird.

[0082] Bei einer Einrichtung gemäß der Erfindung benötigt man keinen vertikalen Verfahrenmechanismus für den Dispensierkopf und kann wegen der verwendeten Tropftechnik ohne Probenverschleppung fortlaufend dispensieren. Das Dispensieren erfolgt auch über mehrere MP 2 ohne Zwischenspülung und es entfällt die sonst übliche Waschstation, um die Spitzen zu reinigen, da ein Eintauchen in die Wells 21 der MP 2 nicht erfolgt. Assays, die die Zugabe von zwei Flüssigkeiten direkt hintereinander zur Initiierung von Lichtreaktionen erfordern, können ohne Einschränkungen gemessen werden, da die MP gegenüber dem Gesichtsfeld der Kamera während der fortlaufenden Dispensierung aufeinander folgender Spalten der MP 2 nicht verschoben wird, so dass eine vollständige und kontinuierliche Beobachtung der Kinetik möglich ist. Das kontaktfreie Dispensieren ist aus Gründen der erreichbaren Probenreinheit, aus Kostengründen wegen der geringeren Mengen an benötigter Dispensierflüssigkeit und wegen der größeren Flexibilität bei der Änderung von Art und Volumina der Dispensiersubstanzen einem eintauchendem Pipettieren wesentlich überlegen.

[0083] Eine scheinbar längere Dauer des Dispensierens mit nur acht Düsen gegenüber dem vollständigen Pipettieren aller Wells 21 einer MP 2 lässt sich durch folgende kompensierende Effekte widerlegen:

a) die gesamte Messzeit für eine Flash-Lumineszenz beträgt ca. 20 s. Die konstante Geschwindigkeit des Kamms über der MP erfordert etwa nochmals diese Zeitspanne, so dass sich die gesamte Verweilzeit der MP im Instrument höchstens verdoppelt.

b) da eine Spülzeit oder Spitzenwechselzeit entfällt, kann die nächste Platte unmittelbar nachfolgend (ohne weitere Zwischenschritte) gemessen werden,

c) wenn mehrere verschiedene Flüssigkeiten zugegeben werden müssen, können entsprechend viele Kämme mit jeweils einer Pumpe im Gerät angesteuert werden, so dass diese mit konstantem Abstand hintereinander dispensieren, während die Kamera jede Zugabe mit beobachten (d.h. den Verlauf der Lumineszenz messen) kann.

[0084] Um zwischen verschiedenen Mikroplatten 2 beliebig wechseln zu können, ist eine genaue Anpassung des Verfahrenmechanismus und der Dispensier-

steuerung 31 der Dispensiereinheit 3 erforderlich. Für diese Justierungen wird ein Justierkamm 37 eingesetzt, der an die Stelle der sonst eingesetzten Dispensierkämme 32 gesteckt wird. Einen solchen Justierkamm 37 zeigt Fig. 9. Der Justierkamm 37 enthält wenigstens zwei Lichtquellen 371 und zugehörigen Fokussieroptiken 372, die die Wells 21 entsprechend dem Raster der MP 2 beleuchten. Gespeist werden die Lichtquellen 371 von einer Spannungsquelle 373 (z.B. einer Batterie oder einem Akku in Knopfzellenform), wobei diese mit einem äußeren Schalter 374 in Betrieb genommen werden. Die Dispensiereinheit 3 und ggf. auch das Tischsystem werden nun verfahren, um mittels dem CCD-Kamerablock 4 den Zustand der mittigen Lage des Lichtspots der fokussierten Lichtquellen 371 unter der MP 2 festzustellen und entsprechenden Steuersignale zu generieren.

[0085] Für die oben beschriebene erfindungsgemäße Einrichtung sind weitere Ausgestaltungen möglich, ohne den Rahmen dieser Erfindung zu verlassen. Ausgegangen wurde in den vorhergehend beschriebenen Beispielen von einer Dispensiereinheit 3 mit einem Dispensierkamm 32, der eine feste Anzahl von Dispensierdüsen 321, die der größte gemeinsame Teiler der Anzahl der Wells 21 in einer der Dimensionen herkömmlicher MP 2 ist, aufweist. Dabei sind aber Sonderausführungen wie z.B. ein versetzt angeordneter Doppelkamm oder ein Kamm mit 16 der 32 Düsen nicht erfindungsfremd. Es sind insbesondere auch beliebige Mehrfachanordnungen von starr gekoppelten Kämmen 32, die eine vollständige Dispensierung einer ganzen Spalte oder Zeile einer MP 2 gestatten, gleichfalls klar als innerhalb der erfindungsgemäßen Lehre zu verstehen, solange sich diese ohne erfinderisches Zutun in entsprechende Abtastfenster einer Bildabtastung der MP 2 integrieren lassen. Die Einteilung in eine bestimmte Anzahl von Messabschnitten auf der MP 2 (Kacheln 22) ordnet sich ausschließlich dem verwendeten lichtstarken optischen System des Kamerablocks 4 unter und ist keinesfalls auf acht beschränkt. Ebenso ist die offenbarte Möglichkeit des Einsatzes einer Dispensiereinheit 3 mit zwei Dispensierkämmen 32 und zwei Ventilen 35 zur Umschaltung auf vier verschiedene Dispensiersubstanzen rein willkürlich und jederzeit ohne erfinderische Tätigkeit auf beliebige andere Dispensieranforderungen umstellbar.

[0086] Selbstverständlich umfasst die Erfindung neben der vorstehend offenbarten licht- und auflösungsstarken Anordnung mit einer Aufteilung der MP 2 in acht Beobachtungsabschnitte (Kacheln) auch beliebige andere Aufteilungen der MP 2, beispielsweise 4 oder 2 Kacheln. Ebenso sind alle oben beschriebenen Beispiele mit Aufteilung der MP 2 in Kacheln bei geeigneter anderer Dimensionierung von Dispensiereinrichtung 3 und Kamerablock 4 auch auf die ganze MP 2 anwendbar.

Bezugszeichenliste

1	Tischsystem
11	Tischsteuerung
12	Adapterhalter
13	flacher MP-Adapter
14	hoher MP-Adapter
2	Mikroplatte (MP)
21	Well (Kavität)
22	Kachel (Abschnitt der MP)
3	Dispensiereinheit
31	Dispensiersteuerung
32	Kamm
32a, 32b	erster, zweiter Kamm
321	Düsen
33	Pumpe
34	Verbindungsschlauch
35	Ventil
36	Zufuhrschläuche
37	Justierkamm
371	Lichtquellen
372	Fokussieroptik
373	Spannungsquelle
374	Schalter
4	Kamerablock
41	Kamerasteuerung
42	CCD-Kamera
43	Restlichtverstärker
44	lichtstarkes Objektiv
45	Relay-Optik
46	telezentrisches Objektiv
47	Taper
48	Faserplatte
49	Stelleinheit
5	Rechner(PC)
6	Abfallwanne

Patentansprüche

1. Einrichtung zum Dispensieren und Beobachten der Lumineszenz von Einzelproben in Multiprobenanordnungen, insbesondere für die Untersuchung von biologischen, chemischen oder zellbiologischen Assays mit hohem Probendurchsatz (HTS), enthaltend eine Mikroplatte mit einer Vielzahl von in Zeilen und Spalten angeordneten Kavitäten, eine Dispensiereinheit mit einer festen Anzahl von Dispensierspitzen, die über der Mikroplatte angeordnet ist, ein Tischsystem zum relativen Bewegen der Mikroplatte gegenüber der Dispensiereinheit, ein optisches System zur Übertragung von Lumineszenzlicht, das in den Kavitäten der Mikroplatte infolge der Dispensierung angeregt wird, auf eine CCD-Kamera, wobei das optische System und die CCD-Kamera unterhalb der Mikroplatte angeordnet sind und sich alle vorgenannten Komponenten in einem lichtdichten Gehäuse befinden, dadurch gekennzeichnet, dass – die Dispensiereinheit (3) wenigstens einen linea-

ren, symmetrisch baumartig strukturierten Dispensierkamm (32) aufweist, wobei der Dispensierkamm (32) eine gerade Anzahl von Dispensierdüsen (321) enthält, die einen ganzzahligen Teiler der Zahl der Kavitäten (21) in einer Dimension der Mikroplatte (2) darstellt,

– der Dispensierkamm (32) orthogonal zu deren Längsausdehnung verschiebbar angeordnet sind, um sukzessive einen vorgewählten Bereich der Mikroplatte (2) zu dispensieren,

– jeder Dispensierkamm (32) an eine steuerbare Pumpe (33) zur Dosierung der zu dispensierenden Flüssigkeitsmenge ohne Eintauchen in die Kavitäten (21) der Mikroplatte (2) angeschlossen ist, und

– die CCD-Kamera (42) mittels des optischen Systems (44; 45; 46; 47; 48) auf einen großflächigen, rechteckigen Bereich des Unterseits der Mikroplatte (2) gegenüber der Dispensiereinheit (3) ausgerichtet ist, wobei die Fläche in einer Dimension an die Längsausdehnung des Dispensierkammes (32) und in der anderen Dimension an den durch die Verschiebung des Dispensierkammes (32) überstrichenen Bereich der Mikroplatte (2) angepasst ist, so dass in jeder der aufeinanderfolgend dispensierten Spalten von Kavitäten (21) der Mikroplatte (2) ein zeitlicher Verlauf der Lumineszenz gleichzeitig mit der fortgesetzten Dispensierung messbar ist.

2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl der Düsen (321) eines Dispensierkammes (32) der Anzahl der Kavitäten (21) in den Spalten der Mikroplatte (2) entspricht, wobei der Kamm (32) ausschließlich orthogonal zu dessen Längsausdehnung kontinuierlich verschoben wird.

3. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl der Düsen (321) des Dispensierkammes (32) kleiner als die Anzahl der Kavitäten (21) der Spalten der Mikroplatte (2) ist, wobei die Anzahl der Kavitäten (21) der Spalten der Mikroplatte (2) ein ganzzahliges Vielfaches der Anzahl der Dispensierdüsen (321) des Kammes (32) ist und nach der spaltenweisen Verschiebung des Dispensierkammes (32) in x-Richtung die Mikroplatte (2) um so viele Zeilenabstände in y-Richtung verschiebbar ist, wie der Anzahl der Düsen (321) des Dispensierkammes (32) entspricht, um die Verschiebung des Dispensierkammes (32) in x-Richtung zu wiederholen.

4. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Dispensiereinheit (3) mehrere parallel zueinander angeordnete Dispensierkämme (32) aufweist, die starr miteinander gekoppelt und jeweils über der von der CCD-Kamera (4) beobachteten Fläche der Mikroplatte (2) verschiebbar sind.

5. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Dispensierkämme (32) zur aufeinanderfolgenden Dispensierung unterschiedlicher

Substanzen in dieselben Kavitäten (21) der Mikroplatte (2) vorgesehen sind.

6. Anordnung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Dispensiereinheit (3) zusätzlich je Dispensierkamm (32) ein steuerbares Ventil (35) zur Umschaltung zwischen zwei verschiedenen Dispensiersubstanzen aufweist, wobei die Ventile (35) der Pumpe (33) jedes Kammes (32) vorgeordnet sind.

7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass eine Abfallwanne (6) zum Auffangen von Dispensiersubstanz neben der Mikroplatte (2) im Verschieberegion des Dispensierkammes (32) vorhanden ist, wobei die Abfallwanne (6) parallel zur Längsausdehnung des Kammes (32) ausgerichtet ist, um die bisher verwendete Dispensiersubstanz, die noch in Kamm (32), Pumpe (33) und Verbindungsschläuchen (34) bis hin zum Ventil vorhanden ist, durch Verdrängen mit neuer Substanz auszustößen.

8. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Dispensierkämme (32) zur aufeinanderfolgenden Dispensierung derselben Substanz in unterschiedlichen Kavitäten (21) der Mikroplatte (2) vorgesehen sind.

9. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Düsen (321) eines Dispensierkammes (32) den zweifachen Abstand der Kavitäten (21) der Mikroplatte (2) aufweisen, wobei in einem ersten Schritt nur die ungeraden und in einem zweiten Schritt die geraden Kavitäten (21) in den Spalten der Mikroplatte (2) dispensierbar sind.

10. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass zwei Dispensierkämme (321) um den halben Düsenabstand versetzt parallel zueinander angeordnet sind.

11. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein Dispensierkamm (32) entlang seiner Längsausdehnung relativ zur Mikroplatte (2) um den halben Düsenabstand des Kammes (32) verschiebbar ist.

12. Anordnung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Verschiebung des Dispensierkammes (32) um den halben Düsenabstand durch Verschieben der Mikroplatte (2) zwischen zwei unterschiedlichen Positionen mittels des Tischsystems (1) in y-Richtung vorgesehen ist.

13. Anordnung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die relative Verschiebung des Dispensierkammes (32) um den halben Düsenabstand durch Verschieben der Dispensiereinheit (3) zwischen zwei unterschiedlichen Positionen in y-Richtung vorgesehen ist.

14. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das optische System der CCD-Kamera (4) ein lichtstarkes Objektiv (44) und einen elektronenoptischen Lichtverstärker (43) sowie eine verkleinernd abbildende Relayoptik (45) aufweist.

eine zusätzliche Autofokuseinheit vorhanden ist.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

15. Anordnung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Chip der CCD-Kamera (42) gekühlt ist.

16. Anordnung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass als lichtstarkes Objektiv (44) des optischen Systems ein kommerzielles Objektiv vorgesehen ist, mit dem die Mikroplatte (2) vollständig auf den Chip (421) der CCD-Kamera (42) abgebildet wird.

17. Anordnung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass als lichtstarkes Objektiv (44) des optischen Systems ein telezentrisches Objektiv (46) mit großer numerischer Apertur vorgesehen ist, mit dem ein rechteckiger Abschnitt (22) der Mikroplatte (2) auf den Chip (421) der CCD-Kamera (42) abbildbar ist, wobei oberhalb des so definierten Gesichtsfeldes der CCD-Kamera (42) die Dispensiereinheit (3) angeordnet und deren Verschiebebereich an das verfügbare Gesichtsfeld der CCD-Kamera (42) angepasst ist.

18. Anordnung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroplatte (2) in acht gleichgroße rechteckige Abschnitte (22) unterteilt wird, die nacheinander mittels des Tischsystems (1) lückenlos und nicht überlappend in das Gesichtsfeld der CCD-Kamera (42) einführbar sind; wobei die längere Kante des Chip (421) der CCD-Kamera (42) in Richtung der kurzen Seite der Mikroplatte (2) ausgerichtet ist, um die Seitenverhältnisse von Chip (421) und Mikroplatte (2) weitgehend anzugleichen und das Gesichtsfeld der CCD-Kamera (42) voll auszuschöpfen.

19. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zur Anpassung an unterschiedliche Mikroplattentypen eine Adapter-Halterung (12) zur Befestigung von Mikroplattenhaltern (13; 14) am Tischsystem (1) vorgesehen ist, die bei unterschiedlicher Dicke der Mikroplatten (2) eine konstante Höhe der oberen Oberfläche der Mikroplatte (2) gewährleistet.

20. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass zur Einstellung einer scharfen Abbildung auf dem Chip (421) der CCD-Kamera (42) eine Stelleinheit (49) zum vertikalen Verschieben des gesamten Optik-Kamerablocks (4) vorhanden ist.

21. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass zur Einstellung einer scharfen Abbildung auf dem Chip (421) der CCD-Kamera (42)

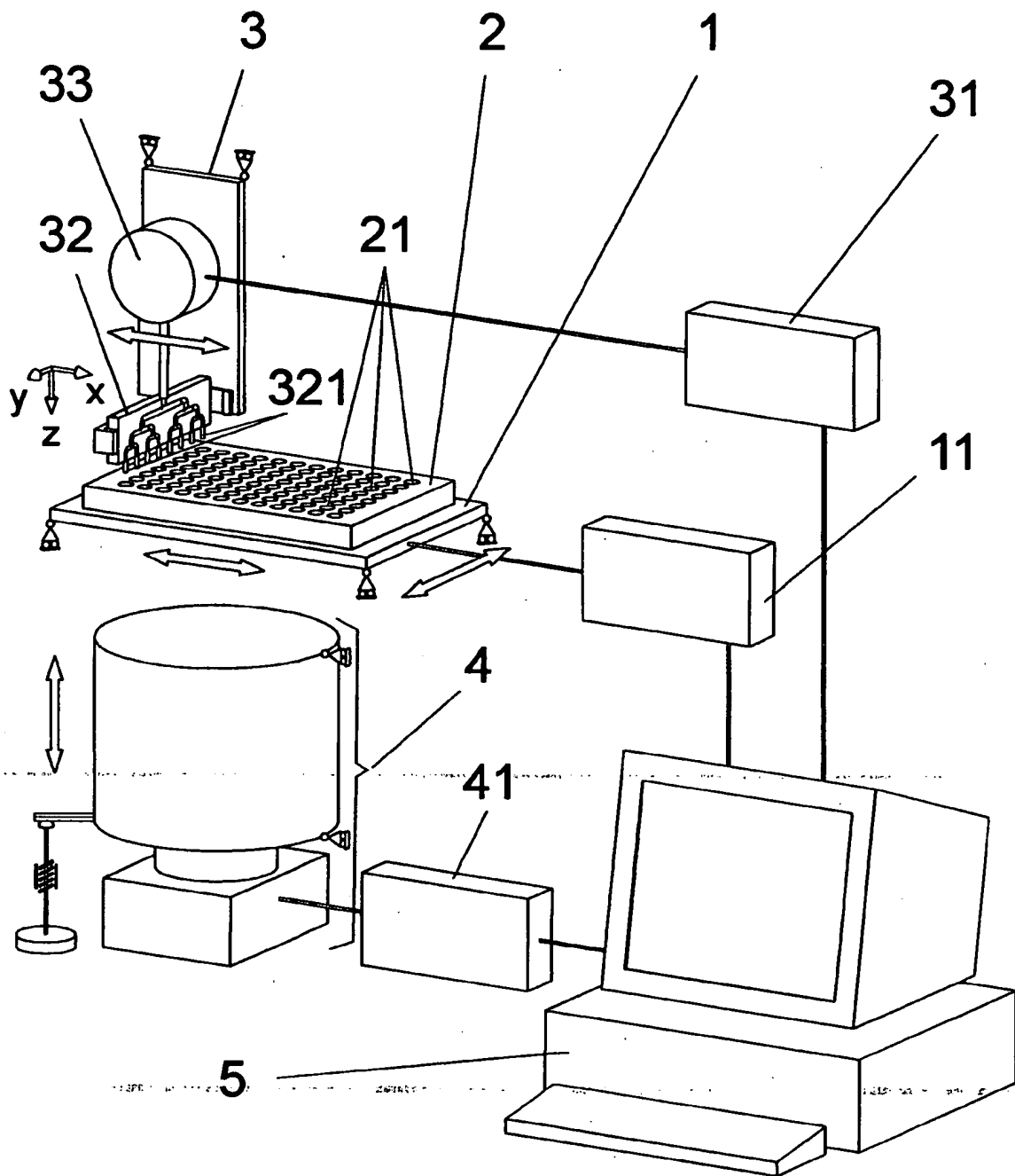


Fig. 1

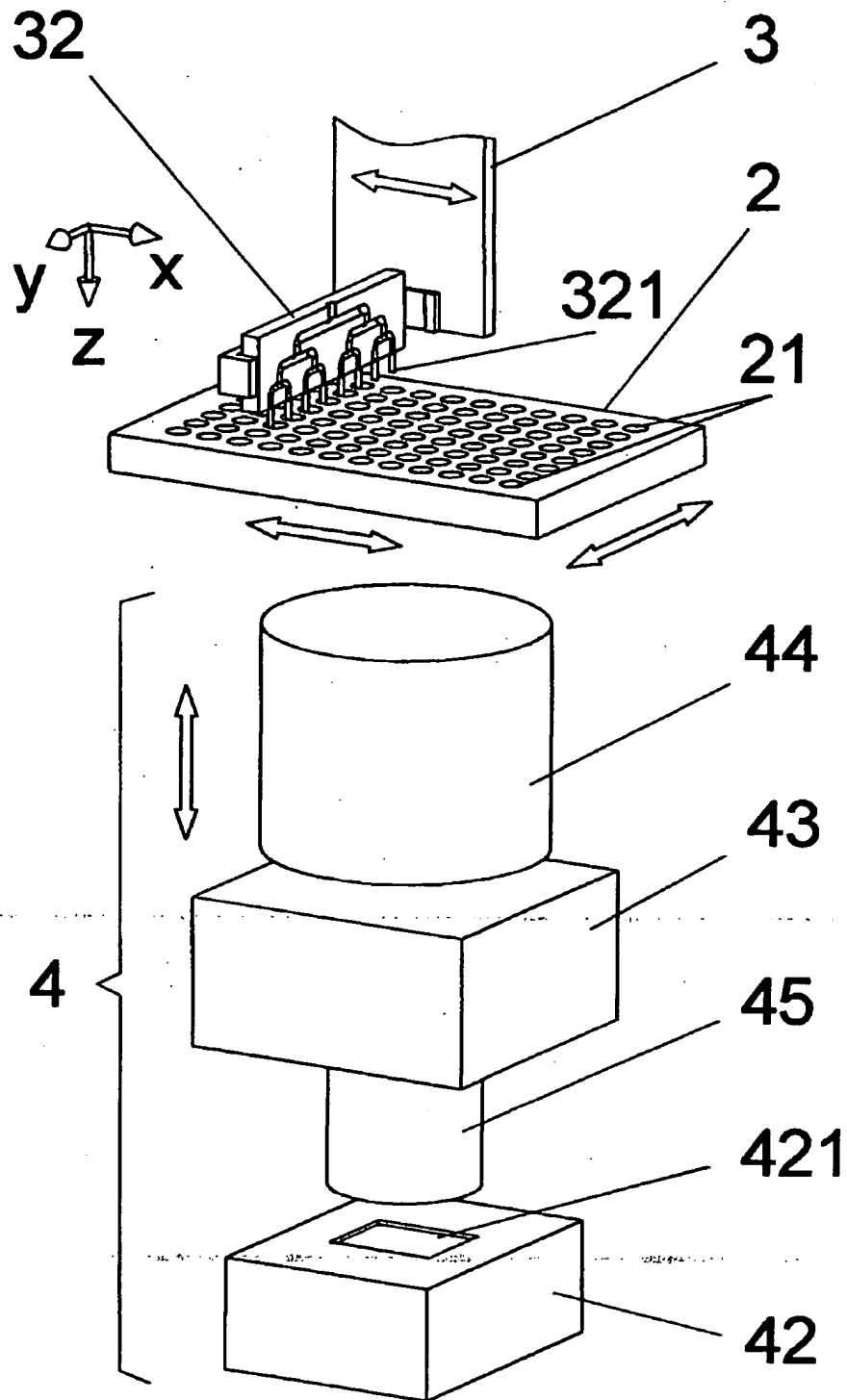


Fig. 2

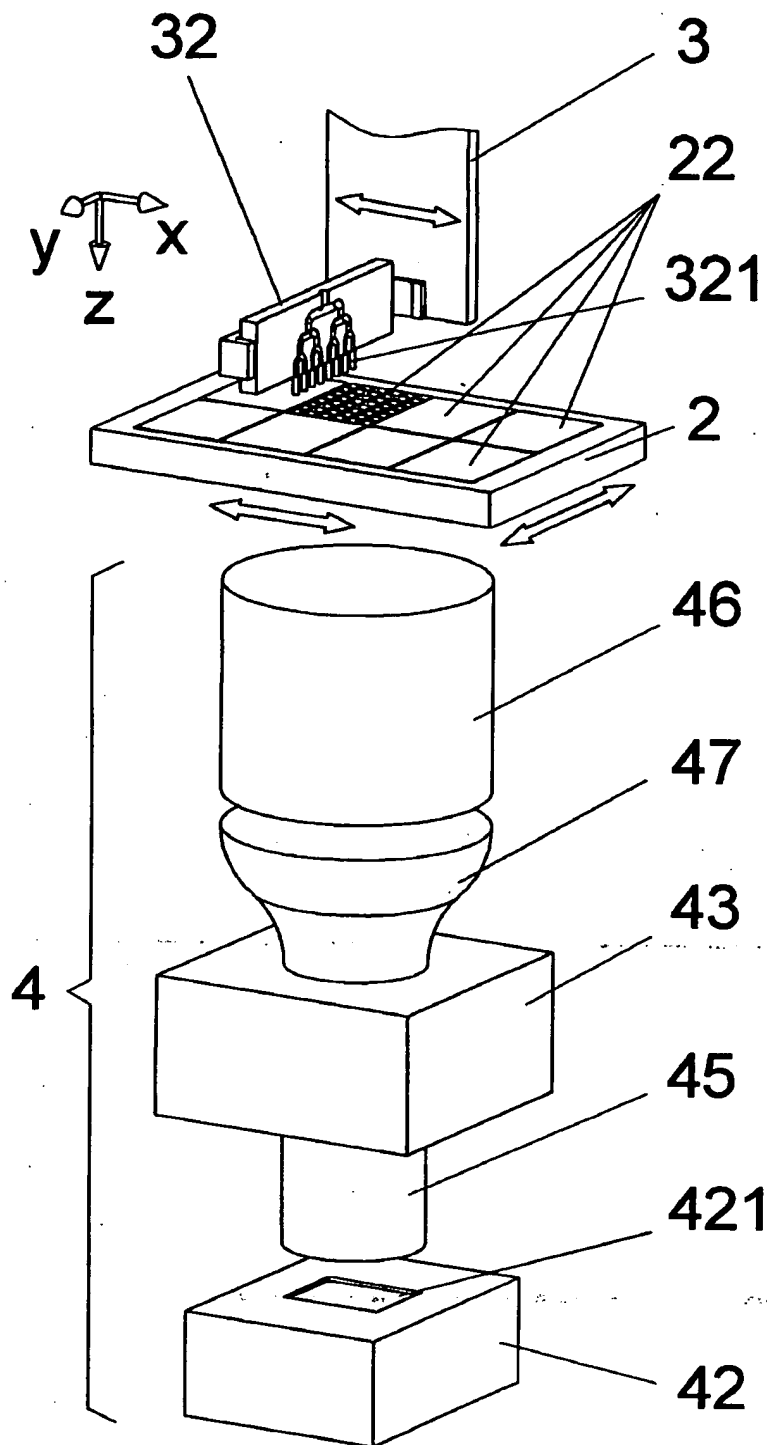


Fig. 3

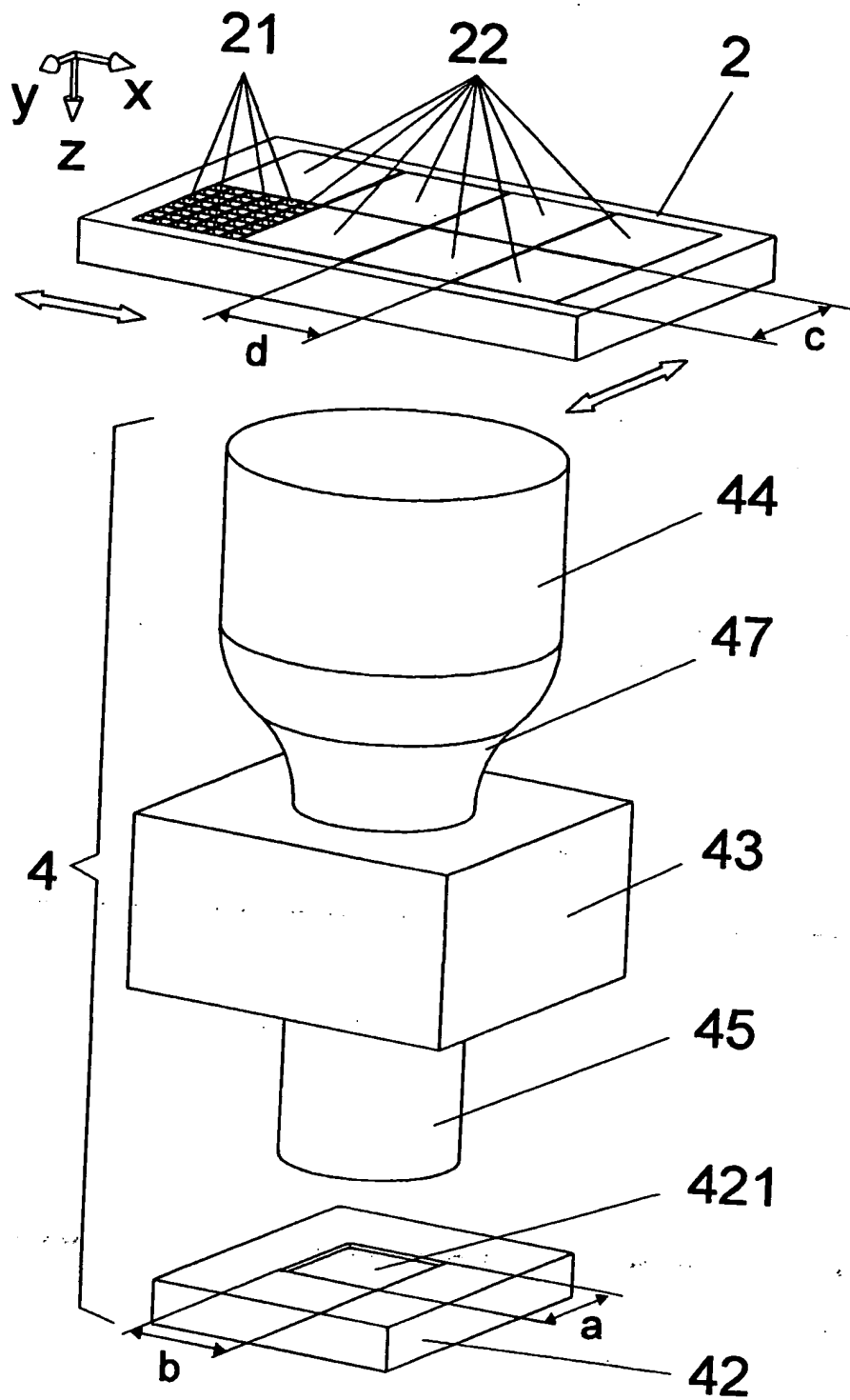


Fig. 4

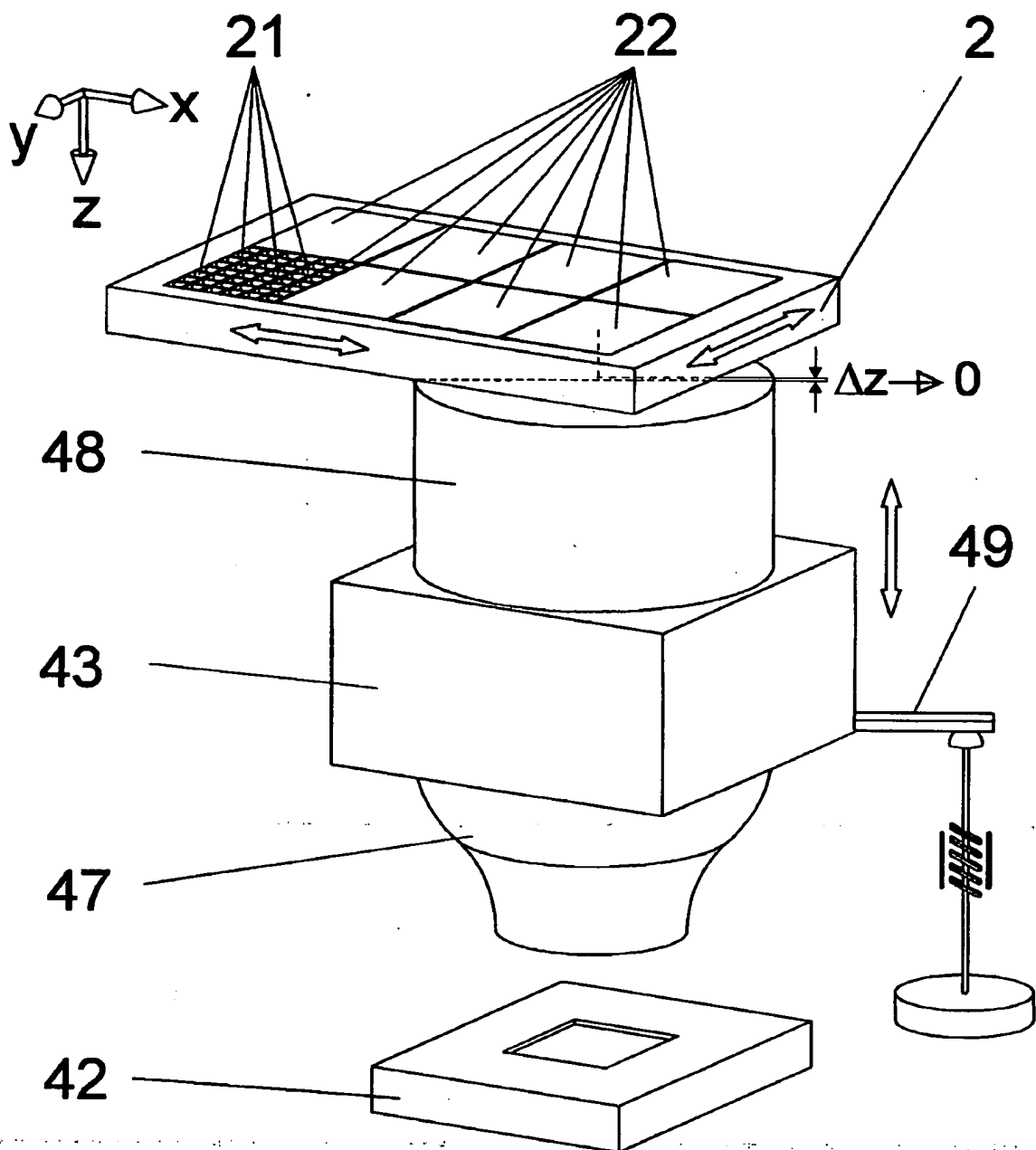


Fig. 5

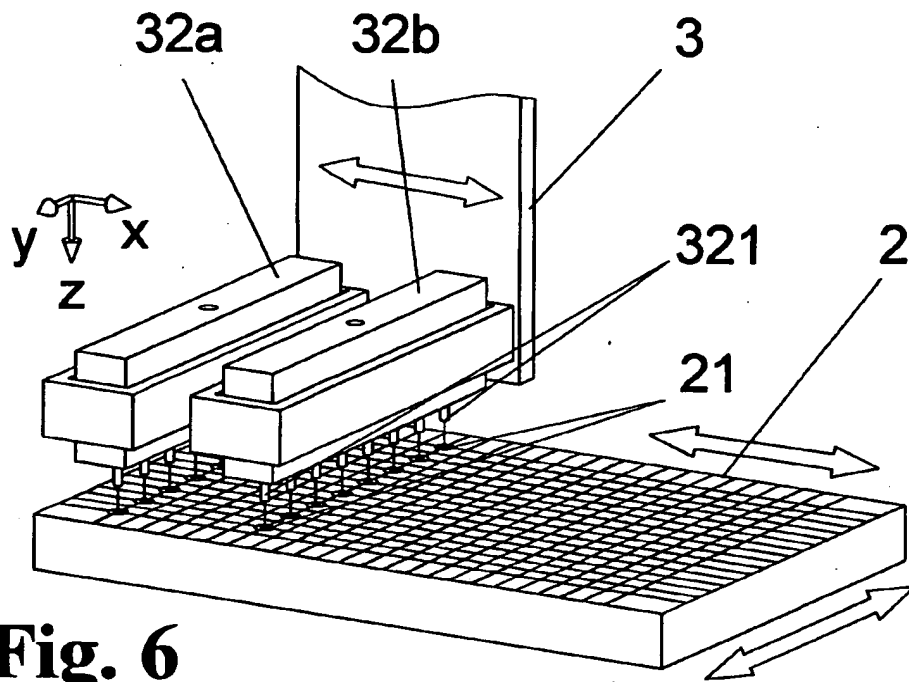


Fig. 6

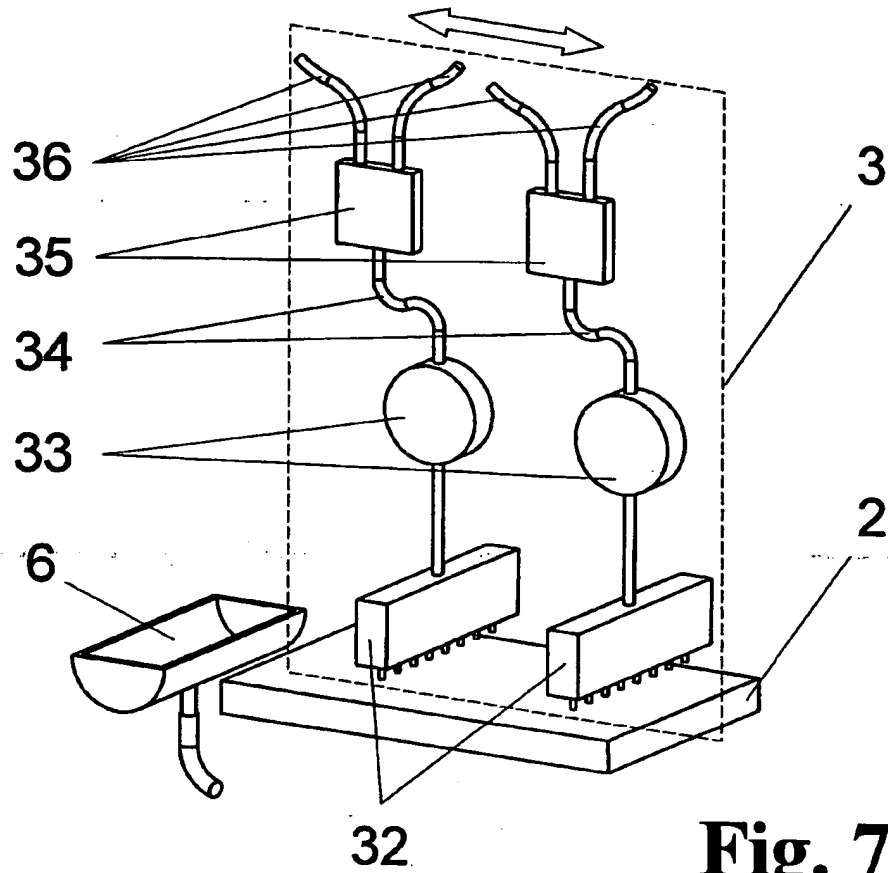


Fig. 7

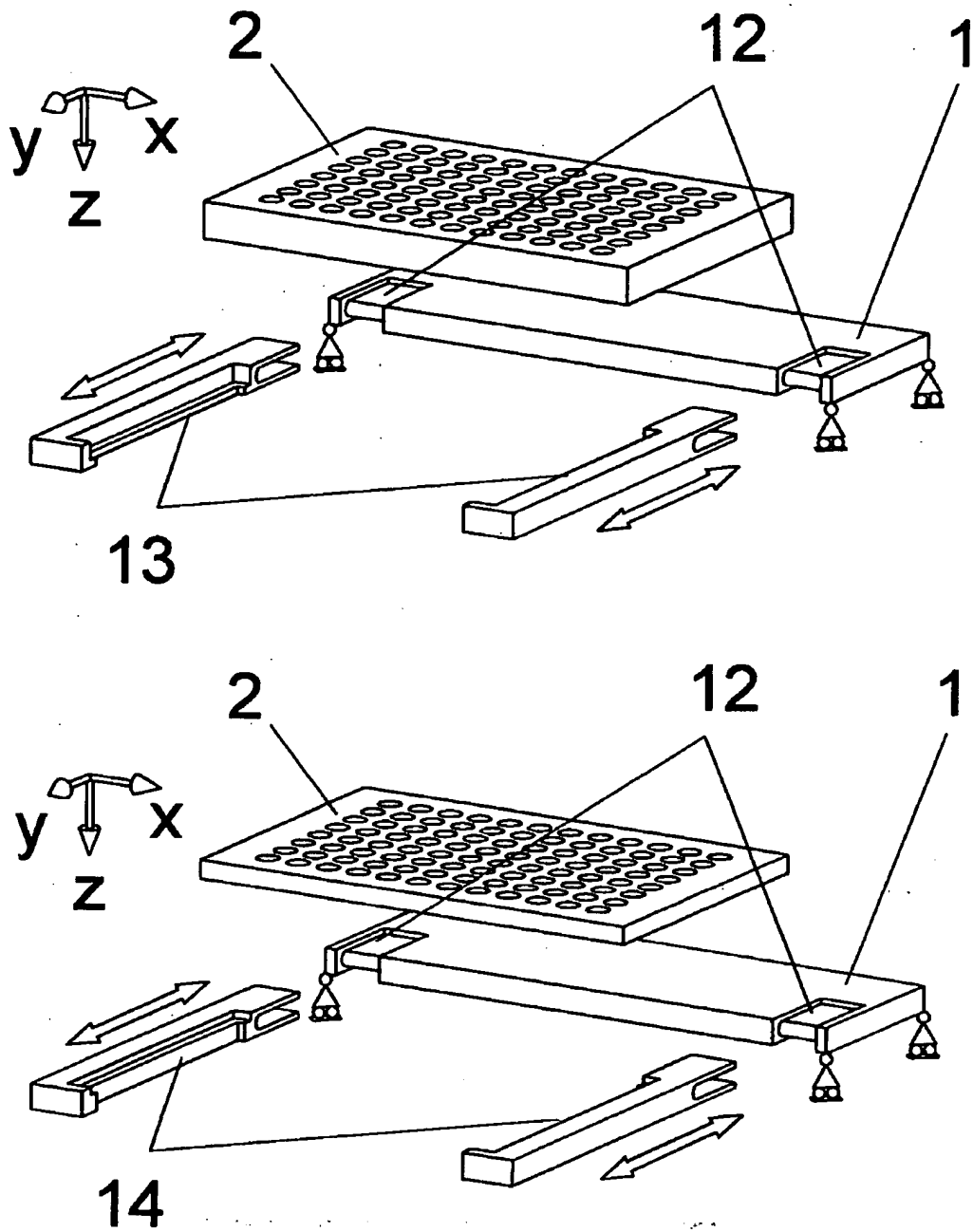


Fig. 8

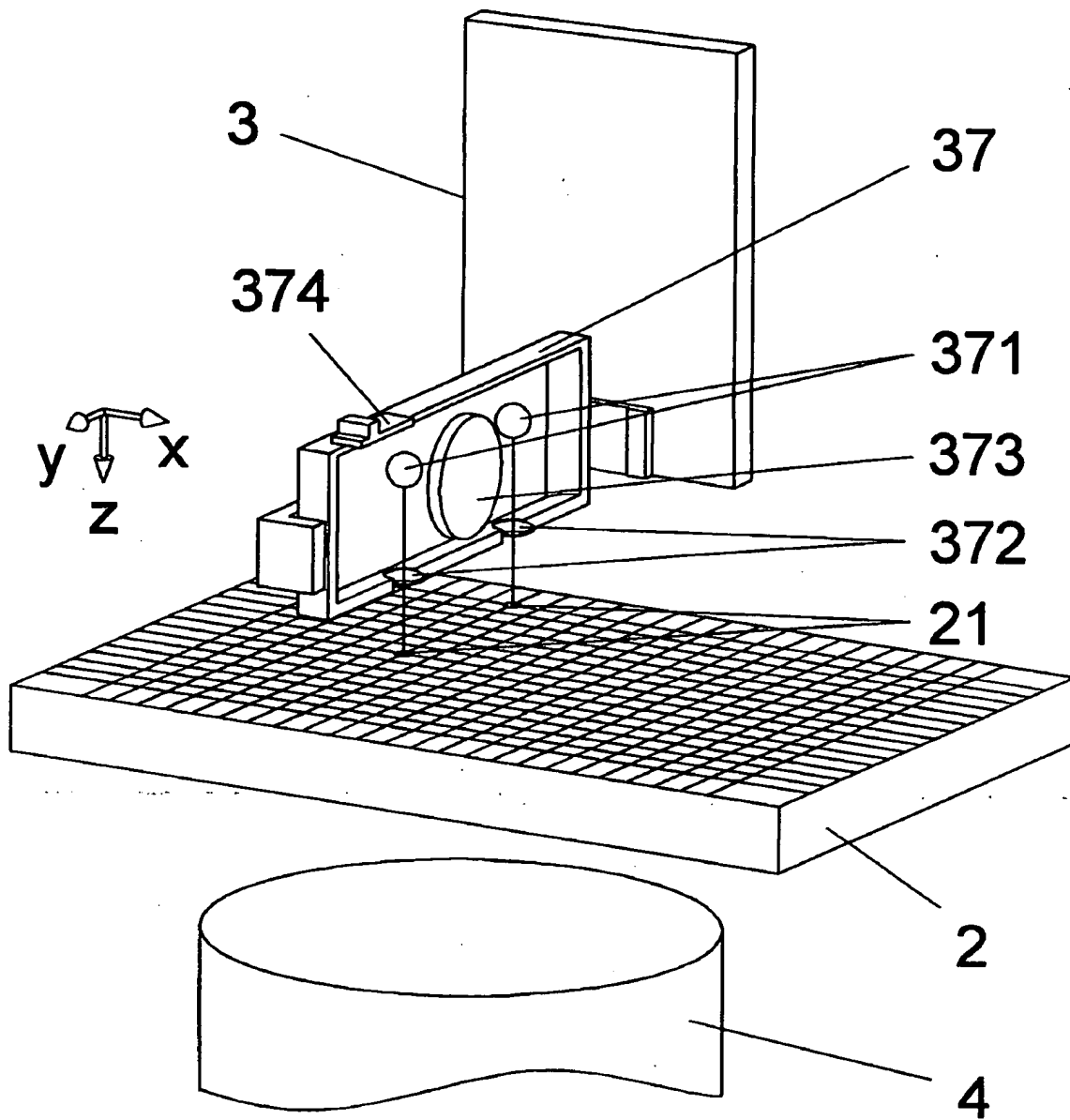


Fig. 9